



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Farmacia – Programa de Magíster en Ciencias Farmacéuticas

**EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO OBTENIDO DESDE *NICOTIANA*
TABACUM L. ENRIQUECIDO CON SOLANESOL EN LA
REDUCCIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO SOBRE MODELOS
CELULARES *IN VITRO* ASOCIADOS A AFECCIONES CUTÁNEAS**

Tesis presentada a la Facultad de Farmacia de la Universidad de
Concepción para optar al grado de Magister en Ciencias
Farmacéuticas

POR: YUDEYKI ALMUIÑA GUERRA

Profesor Guía: Dra. Marcia Avello Lorca

Profesor Co-Guía: Dr. Oscar Galarce Bustos

Profesor Co-Guía: Dr. Claudio Aguayo Tapia

Julio, 2025
Concepción-Chile

Con el consentimiento del Profesor Guía

Dra. Marcia Avello Lorca
Departamento de Farmacia
Universidad de Concepción

Y del Profesor Co-Guía

Dr. Oscar Galarce Bustos
Departamento de Farmacia
Universidad de Concepción

Y del Profesor Co-Guía

Dr. Claudio Aguayo Tapia
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología
Universidad de Concepción

La Interesada

MSc. Yudeyki Almuiña Guerra
Químico Farmacéutico

© 2025, Yudeyki Almuiña Guerra. Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo siempre la cita bibliográfica del presente documento y su autor.

“Fija tu rumbo a una estrella y podrás navegar a través de cualquier tormenta”

Leonardo da Vinci

A Marcelo

Agradecimientos

Para alcanzar cada sueño siempre se necesita de la ayuda de otros, por esta razón son muchas las personas especiales a las que le mostraría mi gratitud. Algunas están aquí conmigo, otras en mis recuerdos y en el corazón. Sin importar en dónde estén o si alguna vez llegan a leer estas palabras quiero darles las gracias por formar parte de mí.

Quiero agradecer

A mi Marcelo, cada agradecimiento es poco para la personita que me enseñó a vivir, que es mi sonrisa y como ambos decimos mi sol eterno

A mis padres por ser mi fuerza y mi mayor fortuna, por enseñarme que todo esfuerzo es al final recompensa.

A mi hermana por ser la mejor del mundo y mi mayor ejemplo a seguir.

A Yariel por su amor incondicional y su gran paciencia.

A Deliany, por sus consejos, han sido mis refuerzos en los momentos difíciles y su gran amistad; por ser más que una amiga, una hermana

A Lau, por ser de esas personas que le agradeces a la vida por haberla conocido

A todas aquellas personas que un día dije adiós para tomar un avión, y nunca más volveré a decir hola cuando regrese

A mis compañeros del laboratorio (especialmente a Camilo), gracias por toda la ayuda brindada

A mi profesora guía la Dr. Marcia, por su paciencia y dedicación, por ser de esas personas que llegan a tu vida para hacerla única.

A los profesores Dr. Oscar Galarce y Dr. Claudio Aguayo, por sus exigencias y apoyo en todo momento

A todos los profesores de la facultad que han contribuido en mi formación profesional y aquellas otros que han contribuido a mi formación personal

A Dios que nunca me ha dejado sola.

En fin, gracias a todas las personas que aportaron su granito de arena para que este día se hiciera realidad y así poder cerrar esta etapa llena de buenos recuerdos

.....**A todos mil gracias**.....

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	V
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. ANTIOXIDANTES	6
2.1.1. Aspectos Generales.....	6
2.1.3. Mecanismos de Acción	9
2.1.4. Métodos in vitro para la evaluación de la actividad antioxidante	11
2.2. ESTRÉS OXIDATIVO	22
2.2.1. Generalidades	22
2.2.2. Radicales Libres y Enfermedades Crónicas.....	25
2.3. AFECCIONES CUTÁNEAS	27
2.3.1. Generalidades	27
2.3.2. Clasificación de las afecciones cutáneas generadas por agentes no biológicos.....	31
2.3.3. Factores de riesgo de las afecciones cutáneas.....	36
2.3.4. Tratamientos.....	40
2.4. NICOTIANA TABACUM L.....	44
2.4.1. Generalidades	44
2.4.2. Taxonomía	46
2.4.3. Distribución de especies de Nicotiana tabacum L. en Chile	49
2.4.4. Usos no convencionales del Tabaco	50
2.4.5. Fitoquímica y actividad biológica	52
2.5. SOLANESOL	54
2.5.1. Propiedades físico- químicas	54

2.5.2.	<i>Presencia y contenido de solanesol en solanáceas</i>	55
2.5.3.	<i>Actividad farmacológica</i>	57
2.5.4.	<i>Mecanismos de acción para su actividad biológica</i>	59
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	63
3.1.	OBTENCIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE FRACCIONES DE EXTRACTO CON CONTENIDO DE SOLANESOL DE LAS HOJAS DE <i>NICOTIANA TABACUM L.</i>	63
3.1.1.	<i>Tratamiento de muestra</i>	63
3.1.2.	<i>Obtención del Extracto</i>	65
3.1.3.	<i>Fraccionamiento del extracto</i>	66
3.1.4.	<i>Análisis cualitativo y cuantitativo del extracto</i>	67
3.2.	EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS FRACCIONES DE EXTRACTO OBTENIDO	71
3.2.1.	<i>Índice de Folin- Ciocalteu. Determinación de Grupos Reductores</i> 72	
3.2.2.	<i>Decoloración del radical DPPH⁺. Determinación de la actividad antioxidante</i>	74
3.2.2.1.	<i>Decoloración del radical DPPH⁺. Determinación del IC 50</i>	76
3.2.2.2.	<i>Decoloración del radical DPPH⁺. Determinación de la cinética en función del tiempo</i>	77
3.2.3.	<i>Efecto Quelante sobre Metales de Transición</i>	79
3.2.4.	<i>Estabilización del Radical Hidroxilo (OH)</i>	80
3.3.	DETERMINACIÓN DEL EFECTO PROTECTOR CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO DEL EXTRACTO OBTENIDO EN LÍNEAS CELULARES	81
3.3.1.	<i>Descripción de línea celular y cultivo</i>	81
3.3.2.	<i>Ensayo de citotoxicidad celular en células endoteliales</i>	82
3.3.3.	<i>Detección de especies reactivas de oxígeno total</i>	84
3.4.	FORMULACIÓN DE UN GEL A BASE DE SOLANESOL	85
3.4.1.	<i>Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del gel de solanesol.</i> ..	87
3.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	90
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	91
4.1.	OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO Y SUS FRACCIONES CON CONTENIDO DE SOLANESOL DE LAS HOJAS DE <i>NICOTIANA TABACUM L.</i>	91

4.2.	ESTANDARIZACIÓN DE UN EXTRACTO Y SUS FRACCIONES CON CONTENIDO DE SOLANESOL DE LAS HOJAS DE <i>NICOTIANA TABACUM L.</i>	96
4.2.1.	IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES QUÍMICOS ACTIVOS EN EL EXTRACTO Y SUS FRACCIONES CON CONTENIDO DE SOLANESOL	97
4.2.2.	ANÁLISIS CUANTITATIVO DE UN EXTRACTO Y SUS FRACCIONES CON CONTENIDO DE SOLANESOL	105
4.3.	EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO OBTENIDO DE <i>NICOTIANA TABACUM L.</i> , MEDIANTE ENSAYOS <i>IN VITRO</i>	109
4.3.1.	<i>Determinación de Grupos Reductores. Índice de Folin- Ciocalteu</i> 109	
4.3.2.	<i>Decoloración del radical DPPH⁺. Determinación de la actividad antioxidante y del IC 50</i>	113
4.3.2.1.	Cinética de actividad antioxidante	120
4.3.3.	<i>Efecto Quelante sobre Metales de Transición</i>	126
4.3.4.	<i>Estabilización del Radical Hidroxilo (OH)</i>	130
4.4.	DETERMINACIÓN DEL EFECTO PROTECTOR CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO DEL EXTRACTO OBTENIDO DE <i>NICOTIANA TABACUM L.</i> , CON PRESENCIA DE SOLANESOL, EN LÍNEAS CELULARES EAHY 926	137
4.4.1.	<i>Determinación de la citotoxicidad celular en células endoteliales.</i> ..	137
4.4.2.	<i>Detección de especies reactivas de oxígeno total</i>	143
4.5.	FORMULACIÓN DE UN GEL A BASE DE SOLANESOL	151
4.5.1.	<i>Parámetros fisicoquímicos del gel de solanesol</i>	153
5.	CONCLUSIONES	158
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	160

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES. TOMADO DE (ZULUAGA, 2012)	10
TABLA 2: FORMULACIÓN DEL GEL DE SOLANESOL. ELABORACIÓN PROPIA	87
TABLA 3: COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS MEDIANTE SOXHLET Y UAE. TOMADO DE (L. WANG, & WELLER, CL, 2006)	93
TABLA 4: DETERMINACIÓN DE GRUPOS REDUCTORES TOTALES. ELABORACIÓN PROPIA	111
TABLA 5: INHIBICIÓN DEL RADICAL DPPH. ELABORACIÓN PROPIA	115
TABLA 6: EVALUACIÓN DEL GEL DE SOLANESOL	156

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: REACCIÓN DEL ÁCIDO GÁLICO CON EL REACTIVO DE FOLIN-CIOCALTEU. TOMADO DE (SINGLETON, 2014)	13
FIGURA 2: ESTRUCTURA DEL DPPH ANTES Y DESPUÉS DE LA REACCIÓN CON UN ANTIOXIDANTE. TOMADO DE (OJHA, 2012)	14
FIGURA 3: REACCIÓN DE QUELACIÓN DE UN METAL DE TRANSICIÓN. TOMADO DE (GARRIDO, 2018).....	16
FIGURA 4: REACCIÓN INDIRECTA DE INHIBICIÓN DEL RADICAL OH. ADAPTADO DE (VALVERDE, 2014).....	17
FIGURA 5: REDUCCIÓN METABÓLICA DEL MTT A SAL DE FORMAZAN. TOMADO DE (BERRIDGE, 2005)	19
FIGURA 6: ENSAYO DCFH-DA EN LA CÉLULA. TOMADA DE (ČAPEK, 2021).....	21
FIGURA 7: ESTRÉS OXIDATIVO. REPRESENTACIÓN DEL BALANCE QUE EXISTE ENTRE LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS Y EL SISTEMA ANTIOXIDANTE. TOMADO DE (GARCÍA, 2015)	23
FIGURA 8: AFECCIONES CUTÁNEAS A NIVEL CELULAR Y SU ASPECTO FÍSICO. ADAPTADO DE (HUESO, 2018)	28
FIGURA 9: REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA DERMATOSCOPIA DE LAS AFECCIONES CUTÁNEAS. TOMADO DE (CHADHA, 2020)	32
FIGURA 10: REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LAS AFECCIONES CUTÁNEAS. TOMADO DE (BIRCH-MACHIN, 2020)	39
FIGURA 11: <i>NICOTIANA TABACUM L.</i> ADAPTADO DE (ESPINO, 2009).....	45
FIGURA 12: PARTES DE LA PLANTA DE TABACO: 1, PLANTA DE TABACO; 2, RAÍZ DE LA PLANTA; 3, TALLO; 4, HOJA; 5, FLOR Y PANÍCULA TERMINAL; 6, CAPSULA; 7, SEMILLAS. TOMADO DE (TABACO, 2016)	48
FIGURA 13: USOS NO CONVENCIONALES DEL TABACO. ADAPTADO DE (GEADA, 2010).....	51
FIGURA 14: ESTRUCTURA QUÍMICA DEL SOLANESOL. TOMADO DE (SRIDEVI, 2017) ..	55
FIGURA 15: MECANISMO DE ACCIÓN DEL SOLANESOL. ADAPTADO DE (YIQIU, 2023) ..	61
FIGURA 16: A, MATERIAL VEGETAL SECO; B, MAPA QUE SEÑALA EL SITIO DE COSECHA DEL MATERIAL VEGETAL CORRESPONDIENTE A LA ZONA CENTRO- SUR DE CHILE. ELABORACIÓN PROPIA	64
FIGURA 17: PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL SOLANESOL. ELABORACIÓN PROPIA	67
FIGURA 18: CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR. ELABORACIÓN PROPIA	70
FIGURA 19: CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO GÁLICO. ELABORACIÓN PROPIA.....	73
FIGURA 20: CURVA DE CALIBRACIÓN DE TROLOX. ELABORACIÓN PROPIA	75

FIGURA 21: DISEÑO DEL ENSAYO DE CINÉTICA DEL DPPH EN FUNCIÓN DEL TIEMPO. ELABORACIÓN PROPIA	78
FIGURA 22: ENSAYO DE VIABILIDAD, CON MUESTRAS EN CUADRIPLICADO EN CÉLULAS EA.HY926 Y EN UNA PLACA DE 96 POCILLOS. ELABORACIÓN PROPIA.....	84
FIGURA 23: CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR. ELABORACIÓN PROPIA	89
FIGURA 24: A, EXTRACTO OBTENIDO EN EL PROCESO DE ULTRASONIDO; B, EXTRACTO DESPUÉS DE SER SOMETIDOS A PURIFICACIÓN Y FRACCIONAMIENTO EN COLUMNA CLÁSICA.....	94
FIGURA 25: CROMATOGRAFÍA DE PLACA DELGADA, (S) ESTÁNDAR DE SOLANESOL, (E) EXTRACTO BRUTO, (1-7) FRACCIONES DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS DE LA COLUMNA CROMATOGRÁFICA. ELABORACIÓN PROPIA	99
FIGURA 26: ESPECTRO DE MASA Y ESTRUCTURA QUÍMICA DEL COMPUESTO PRINCIPAL. ELABORACIÓN PROPIA	101
FIGURA 27: CROMATOGRAMA DE HPLC-DAD; A, ESTÁNDAR DE SOLANESOL; B, EXTRACTO CRUDO DE SOLANESOL; C, FRACCIONES DE EXTRACTO OBTENIDAS (7- 12). ELABORACIÓN PROPIA	104
FIGURA 28: DETERMINACIÓN DEL IC 50 PARA EL RADICAL DPPH. ELABORACIÓN PROPIA	117
FIGURA 29: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL RADICAL DPPH, EXPRESADO EN PORCENTAJE DE PROTECCIÓN. SE PRESENTA LA MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE TRIPLICADO. ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR, $p < 0,05$. ELABORACIÓN PROPIA.	118
FIGURA 30: COMPORTAMIENTO CINÉTICO DE LAS FRACCIONES 7 Y 8 FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH EN FUNCIÓN DEL TIEMPO. SE PRESENTA LA MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE TRIPLICADO.ELABORACIÓN PROPIA	121
FIGURA 31: COMPORTAMIENTO CINÉTICO DE LAS FRACCIONES 9 Y 10 FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH EN FUNCIÓN DEL TIEMPO. SE PRESENTA LA MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE TRIPLICADO ELABORACIÓN PROPIA	123
FIGURA 32: COMPORTAMIENTO CINÉTICO DE LAS FRACCIONES UNIFICADA Y EN EL EXTRACTO CRUDO FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH EN FUNCIÓN DEL TIEMPO. SE PRESENTA LA MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE TRIPLICADO. ELABORACIÓN PROPIA	124
FIGURA 33: PORCENTAJE DE QUELACIÓN DE METALES DE TRANSICIÓN. SE PRESENTAN LOS VALORES COMO MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE TRES RÉPLICAS INDEPENDIENTES. ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR, $p < 0,05$. ELABORACIÓN PROPIA.	127
FIGURA 34: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL RADICAL HIDROXILO. SE PRESENTA LA MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE TRIPLICADO. ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR, $p < 0,05$. ELABORACIÓN PROPIA.	132

FIGURA 35: ESPECTROGRAMA DE UV-VIS; A, FRACCIÓN UNIFICADA (FU); B, EXTRACTO CRUDO DE TABACO (E); C, ESTÁNDAR DE ÁCIDO GÁLICO. ELABORACIÓN PROPIA	133
FIGURA 36: EFECTO SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS ENDOTELIALES DEL EXTRACTO CRUDO DE SOLANESOL. LOS VALORES SON PROMEDIOS \pm D.E. (N=4). ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR, $P < 0,05$. ELABORACIÓN PROPIA.....	139
FIGURA 37: EFECTO SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS ENDOTELIALES EN LAS FRACCIONES DE EXTRACTO OBTENIDAS. LOS VALORES SON PROMEDIOS \pm D.E. (N=4). ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR,	141
FIGURA 38: EFECTO DEL EXTRACTO DERIVADO DE NICOTIANA TABACUM L. SOBRE LA GENERACIÓN DE ROS EN CÉLULAS ENDOTELIALES HUMANAS INDUCIDA POR H ₂ O ₂ (0,3%). CÉLULAS CONTROL (CONTROL+) CON H ₂ O ₂ , (CONTROL -P) CÉLULAS CON Sonda Y SIN H ₂ O ₂ EN AUSENCIA DE EXTRACTOS, (C 0.01-10) DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ANTIOXIDANTE, (SE) ESTÁNDAR DE SOLANESOL. ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR, $P < 0,05$. ELABORACIÓN PROPIA.....	145
FIGURA 39: EFECTO DE LAS FRACCIONES DERIVADAS DE NICOTIANA TABACUM L. SOBRE LA GENERACIÓN DE ROS EN CÉLULAS ENDOTELIALES HUMANAS INDUCIDA POR H ₂ O ₂ (0,3%). CÉLULAS CONTROL (CONTROL+) CON H ₂ O ₂ , (CONTROL -P) CÉLULAS CON Sonda Y SIN H ₂ O ₂ EN AUSENCIA DE EXTRACTOS, (C 0.01-10) DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ANTIOXIDANTE, (SE) ESTÁNDAR DE SOLANESOL. ¹ LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS, SEGÚN ANOVA DE UN FACTOR, $P < 0,05$. ELABORACIÓN PROPIA.	148
FIGURA 40: GEL FORMULADO A BASE DE SOLANESOL; A, GEL DE CRUDO DE EXTRACTO; B, GEL DE FRACCIÓN PURIFICADA. ELABORACIÓN PROPIA	153

RESUMEN

La inflamación crónica y el estrés oxidativo son factores clave en la aparición y progresión de diversas afecciones cutáneas. En este estudio se evaluó el efecto de un extracto enriquecido con solanesol, obtenido a partir de *Nicotiana tabacum* L., sobre la reducción del estrés oxidativo en modelos celulares in vitro. Para ello, se utilizaron hebras de tabaco tipo Burley sometidas a extracción asistida por ultrasonido con etanol, seguidas de fraccionamiento cromatográfico en columna clásica y estandarización por técnicas cromatográficas. El extracto crudo presentó la mayor actividad antioxidante en el ensayo DPPH, alcanzando un 90% de inhibición con un IC_{50} de 0,89 $\mu\text{g/mL}$, valor superior al obtenido con Trolox. Asimismo, inhibió un 55% la formación del radical hidroxilo y, en líneas celulares EA.hy926, redujo en más de 60% la generación de especies reactivas de oxígeno, sin mostrar citotoxicidad significativa. Estos resultados confirman el alto potencial terapéutico del solanesol como agente antioxidante y protector celular. Además, proponen una estrategia innovadora de valorización de los residuos de la industria tabacalera, al emplearlos como fuente de compuestos bioactivos.

ABSTRACT

Chronic inflammation and oxidative stress are key factors in the onset and progression of various skin disorders. This study evaluated the effect of a solanesol-enriched extract obtained from *Nicotiana tabacum* L. on the reduction of oxidative stress in in vitro cellular models. Burley-type tobacco strands were subjected to ultrasound-assisted ethanol extraction, followed by classical column chromatographic fractionation and standardization using chromatographic techniques. The crude extract showed the highest antioxidant activity in the DPPH assay, achieving 90% inhibition with an IC_{50} of 0.89 $\mu\text{g/mL}$, outperforming Trolox. It also inhibited 55% of hydroxyl radical formation and reduced more than 60% of reactive oxygen species, generation in EA.hy926 cell lines, without showing significant cytotoxicity. These findings confirm the high therapeutic potential of solanesol as an antioxidant and cellular protective agent. Furthermore, they propose an innovative strategy for valorizing tobacco industry residues by using them as a source of bioactive compounds with potential applications in dermatology and cosmetics.

1. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento poblacional ha adquirido una creciente relevancia en las últimas décadas, evidenciado por el aumento sostenido del número de personas mayores de 60 años en comparación con períodos anteriores (Cabrera, 2020). Este fenómeno plantea importantes desafíos para la salud pública, especialmente en lo relativo al deterioro progresivo de las funciones cutáneas asociado al envejecimiento. Estas alteraciones incrementan la susceptibilidad a lesiones dérmicas y diversas enfermedades, y se acompañan de modificaciones estructurales lo que incrementa la sensibilidad a la radiación ultravioleta (UV), así como una menor capacidad de reparación del ADN, factores todos que contribuyen al desarrollo de procesos carcinogénicos (Noels, 2019).

En este contexto, es importante considerar que, además del envejecimiento intrínseco, diversos factores no biológicos exacerbaban el deterioro cutáneo. Entre ellos, las radiaciones UV, la contaminación ambiental y el estrés crónico destacan como agentes capaces de inducir daño molecular y desencadenar una amplia variedad de afecciones cutáneas (A. Álvarez, Rodríguez, JM. y Salas, A, 2020). De hecho, patologías como el fotoenvejecimiento, la dermatitis, la queratosis actínica, diversas enfermedades inflamatorias e incluso ciertos tipos de carcinoma

cutáneo, han sido asociadas con la exposición crónica a estos factores ambientales (Kafle, 2019).

Tanto el estrés oxidativo como la inflamación crónica constituyen mecanismos clave en la fisiopatología de muchas de estas afecciones cutáneas. En este sentido, el solanesol ha emergido como un compuesto bioactivo de interés, debido a su potencial para mitigar estos procesos. Diversos estudios han demostrado que el solanesol es capaz de neutralizar especies reactivas de oxígeno, proteger las membranas celulares frente al daño inducido por radiación UV y favorecer la reparación del ADN en células dañadas (H. Wang, Gao, Y., & Zhang, Y 2020). Además, su efecto antiinflamatorio podría contribuir a reducir la inflamación crónica asociada a la exposición solar, promoviendo con ello la regeneración de la piel.

Este metabolito secundario ha sido reconocido como precursor en la síntesis de compuestos de alto valor agregado, como la coenzima Q10, la vitamina K2 y diversas ubiquinonas. Además, se ha documentado su amplio espectro de actividades biológicas, incluyendo efectos antioxidantes, antiinflamatorios e inmunomoduladores, lo que lo posiciona como un candidato promisorio para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas (Kumar, 2015; Ren, 2017).

El tabaco se reconoce como la principal fuente vegetal para la obtención de solanesol. Sin embargo, la producción primaria destinada a este fin implica un elevado costo ambiental y económico. En este contexto, resulta más pertinente orientar la atención hacia los residuos generados por la industria tabacalera, los cuales representan un subproducto abundante y subutilizado. El aprovechamiento de estos desechos no solo contribuiría a mitigar el impacto ambiental asociado a su acumulación, sino que además permitiría revalorizar un material considerado problemático, transformándolo en una fuente alternativa y sostenible para la obtención de solanesol. (Farfán, 2023; X. Huang, 2019).

Esta revalorización no solo contribuiría a modificar la percepción social negativa del tabaco, sino que permitiría emplear sus subproductos como materia prima en el desarrollo de tratamientos innovadores. Esta propuesta se alinea con los principios de sostenibilidad y con la búsqueda de soluciones terapéuticas más seguras, eficaces y estéticamente aceptables (Chacón, 2018).

En este marco, y considerando la necesidad de desarrollar terapias alternativas a partir de cultivos agrícolas tradicionales con alto contenido de compuestos bioactivos, se plantea la siguiente hipótesis y objetivos de la presente investigación:

Hipótesis

El extracto obtenido de *Nicotiana tabacum* L. enriquecido con solanesol presenta propiedades antioxidantes significativas, lo que contribuiría a la reducción del estrés oxidativo sobre modelos celulares *in vitro* asociado a afecciones cutáneas.

Objetivo General

Evaluar las propiedades antioxidantes de un extracto obtenido desde *Nicotiana tabacum* L. enriquecido con solanesol en la reducción del estrés oxidativo *in vitro* asociado a afecciones cutáneas.

Objetivos específicos

1. Obtener un extracto con contenido de solanesol de las hojas de *Nicotiana tabacum* L. de los desechos generados en la industria tabacalera.
2. Evaluar la capacidad antioxidante del extracto obtenido de *Nicotiana tabacum* L., con presencia de solanesol, mediante ensayos *in vitro*.

3. Determinar el efecto protector contra el estrés oxidativo del extracto obtenido de *Nicotiana tabacum L.*, con presencia de solanesol, en líneas celulares EAhy926.
4. Evaluar las propiedades fisicoquímicas de una formulación en gel elaborada a base del extracto obtenido de *Nicotiana Tabacum L.*

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antioxidantes

2.1.1. Aspectos Generales

La generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) constituye un proceso fisiológico inherente al metabolismo celular, especialmente durante la respiración mitocondrial. No obstante, cuando la producción de estas especies excede la capacidad del sistema de defensa antioxidante del organismo, se desencadena una condición conocida como estrés oxidativo. Este fenómeno ha sido ampliamente vinculado al envejecimiento celular y al desarrollo de múltiples patologías crónicas, tales como el cáncer, la diabetes mellitus y diversas enfermedades neurodegenerativas (Halliwell, 2007).

Frente a esta amenaza, las células disponen de un sofisticado sistema antioxidante endógeno, compuesto por enzimas que desempeñan un rol fundamental en la neutralización de los ROS (Finkel, 2011).

En términos generales, se considera antioxidante a cualquier sustancia que, en bajas concentraciones, es capaz de retardar o inhibir significativamente la oxidación de un sustrato, contribuyendo así a la protección de estructuras

celulares y tisulares (Quezada, 2015). Además de su función neutralizadora, estos compuestos se asocian con una disminución del riesgo de enfermedades vinculadas al daño oxidativo, tales como patologías cardiovasculares y procesos de envejecimiento prematuro (Valko, 2007).

Sin embargo, la capacidad del sistema endógeno resulta, en muchas ocasiones, insuficiente para contrarrestar completamente el exceso de radicales libres, por lo que se hace necesaria la incorporación de antioxidantes exógenos a través de la dieta.

2.1.2. Clasificación

El sistema antioxidante del organismo se caracteriza por su notable complejidad y diversidad funcional. Los compuestos antioxidantes pueden clasificarse atendiendo a distintos criterios: su localización (intracelular o extracelular), su solubilidad (hidrosolubles o liposolubles), su origen (endógenos o exógenos) y su mecanismo de acción. Esta clasificación resulta fundamental para comprender el modo en que estos compuestos actúan frente al estrés oxidativo (Halliwell, 2007).

Desde una perspectiva funcional, los antioxidantes pueden dividirse en enzimáticos y no enzimáticos. El primer grupo incluye a enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), que convierte el anión superóxido en peróxido de hidrógeno; este último es posteriormente reducido por la glutatión peroxidasa (GPx), lo que evita la acumulación de especies altamente tóxicas (Finkel, 2011).

La catalasa (CAT) y la glutatión reductasa también resultan esenciales, al participar activamente en la descomposición del peróxido de hidrógeno, uno de los ROS más dañinos para las estructuras celulares (Gleberzon, 2012). Estas enzimas desempeñan un papel crucial en la homeostasis redox a nivel intracelular.

Otra clasificación relevante distingue entre antioxidantes endógenos y exógenos. Los primeros son sintetizados de manera natural por el organismo y resultan indispensables para el mantenimiento del equilibrio redox en condiciones fisiológicas (Halliwell, 2007). En cambio, los antioxidantes exógenos provienen de fuentes externas, particularmente de la alimentación, y refuerzan las defensas celulares frente al estrés oxidativo. Estos compuestos, entre los que se incluyen el glutatión (GSH), las vitaminas A, C y E, así como la coenzima Q10, los carotenoides y los polifenoles, ejercen su efecto protector principalmente a través de la interacción directa con los ROS, minimizando así el daño a macromoléculas biológicas (Dong, 2012). La principal fuente de estos antioxidantes exógenos son

los alimentos de origen vegetal, destacando especialmente frutas, hortalizas y productos derivados de plantas.

La solubilidad de los antioxidantes también influye significativamente en su localización y función. Los compuestos hidrosolubles, como el ácido ascórbico (vitamina C) y el glutatión, se encuentran predominantemente en el citoplasma y en los fluidos extracelulares. En contraste, los antioxidantes liposolubles, como la vitamina E, se incorporan en las membranas celulares, donde previenen la peroxidación lipídica (Dong, 2012; Valko, 2007). Esta distribución diferencial permite una protección eficaz y complementaria frente a diversas fuentes de estrés oxidativo, garantizando la integridad estructural y funcional de los sistemas biológicos.

2.1.3. Mecanismos de Acción

Los antioxidantes ejercen su acción protectora mediante diversos mecanismos, todos ellos orientados a prevenir el daño oxidativo a nivel celular. Su función principal consiste en neutralizar los radicales libres mediante la cesión de electrones, impidiendo así que estas especies reactivas interactúen con componentes esenciales como el ADN, las proteínas o los lípidos de membrana.

En términos generales, los mecanismos de acción de los antioxidantes pueden agruparse en tres categorías principales, como se resume en la Tabla 1 (Sies, 2014): (1) la eliminación directa de ROS, (2) la interrupción de las cadenas de reacción oxidativa, y (3) la quelación de metales de transición que catalizan la formación de especies reactivas. Cada uno de estos mecanismos contribuye, de manera sinérgica, a preservar la homeostasis celular y reducir el impacto del estrés oxidativo en los sistemas biológicos.

Tipo de defensa	Mecanismo de acción	Antioxidante
Prevención	Impiden la formación del RL: -Descomposición del H ₂ O ₂ -Quelación de metales	Catalasa, Glutatión peroxidasa, Superóxido dismutasa, Transferrina ¿Solanesol?
Eliminadores de radicales	Inhiben el inicio de la cadena y rompen la propagación	Vitamina (A, E, C), Coenzima Q10, Flavonoides y Polifenoles ¿Solanesol?
Reparación y Síntesis de Novo	Reparan los daños y reconstituyen la membrana	Enzimas de reparación del ADN, Proteasas, Transferasas

RL: radicales libres

Tabla 1: Mecanismo de acción de los antioxidantes. Tomado de (Zuluaga, 2012)

En conjunto, estos mecanismos permiten que los antioxidantes actúen como una primera línea de defensa frente al estrés oxidativo, manteniendo el equilibrio redox y protegiendo la integridad funcional de las células. La comprensión detallada de estas vías de acción no solo es esencial para interpretar los efectos beneficiosos de compuestos naturales con potencial antioxidante, sino que también fundamenta la selección de ensayos *in vitro* adecuados para su evaluación experimental.

2.1.4. Métodos *in vitro* para la evaluación de la actividad antioxidante

El creciente interés por los compuestos naturales con capacidad antioxidante ha impulsado el desarrollo y estandarización de diversos métodos *in vitro*, los cuales permiten estimar dicha actividad desde múltiples aproximaciones. Estos ensayos, tanto químicos como celulares, son herramientas esenciales en la investigación biomédica, cosmética y alimentaria, ya que permiten caracterizar el potencial antioxidante de extractos o moléculas purificadas de forma rápida, reproducible y a bajo costo (Apak, 2016).

Ensayos químicos *in vitro*

Los métodos *in vitro* pueden clasificarse según el mecanismo químico implicado: basados en transferencia de un electrón (SET, por sus siglas en inglés), y basados en transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT). Los ensayos SET evalúan la capacidad del antioxidante para donar electrones a un radical o sustrato oxidante, mientras que los HAT miden la capacidad de transferencia de átomos de hidrógeno (Prior, 2005). A continuación, se describen los métodos usados:

- **Ensayo de Folin-Ciocalteu**

Los compuestos fenólicos tienen la capacidad de reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu (RFC), cuyo componente activo principal es el ácido fosfomolibdotúngstico. Este reactivo contiene molibdeno en su estado de oxidación $+VI$, caracterizado por su color amarillo. En medio alcalino, los compuestos fenólicos actúan como agentes reductores, provocando la reducción del molibdeno de $+VI$ a $+V$ (Figura 1). Este proceso da lugar a la formación de un complejo de color azul intenso cuya intensidad es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes en la muestra. La absorbancia del complejo

puede ser cuantificada mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 760 nm (Singleton, 2014).

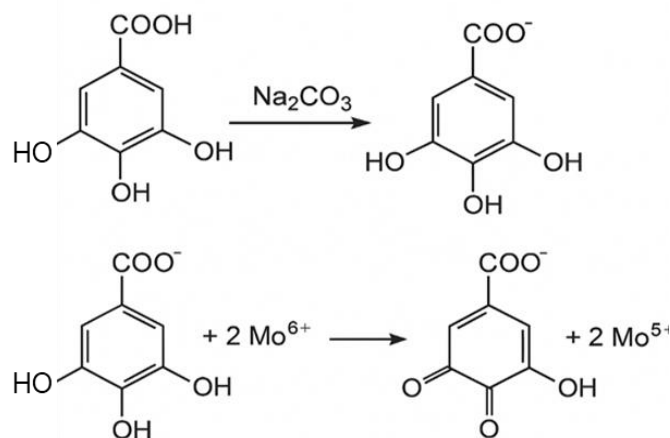


Figura 1: Reacción del ácido gálico con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Tomado de (Singleton, 2014)

- **Ensayo del radical DPPH•**

El radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) presenta un electrón desapareado cuya deslocalización confiere al radical su característico color violeta intenso, con máxima absorbancia a 517 nm en metanol. Cuando DPPH

reacciona con un antioxidante capaz de donar un átomo de hidrógeno, el color violeta disminuye progresivamente, tornándose amarillo o transparente (Figura 2). Este cambio de color se monitoriza espectrofotométricamente para cuantificar la actividad antioxidante de las sustancias evaluadas. Los resultados se expresan comúnmente como concentración inhibitoria 50 (IC50), porcentaje de captación de radicales, o en mg equivalentes de Trolox o vitamina C, cuando se comparan con estándares (Ojha, 2012)

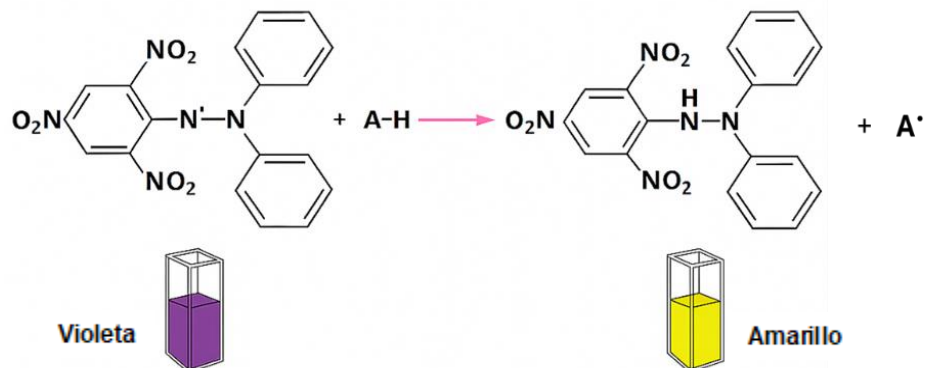


Figura 2: Estructura del DPPH antes y después de la reacción con un antioxidante.

Tomado de (Ojha, 2012)

- **Actividad quelante de metales de transición**

El ion ferroso (Fe^{2+}) puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a través de la reacción de Fenton, generando radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$), los cuales se encuentran entre las especies reactivas de oxígeno más agresivas y citotóxicas. En esta reacción, el Fe^{2+} actúa como catalizador, promoviendo la descomposición del H_2O_2 y facilitando la producción de radicales libres altamente reactivos que pueden inducir daño celular severo (Garrido, 2018).

La presencia de un agente quelante con capacidad antioxidante puede evitar este proceso mediante la formación de un complejo estable con el ion Fe^{2+} . Al quelar el metal, el compuesto impide su participación en la reacción de Fenton, lo que resulta en una disminución significativa en la generación de radicales hidroxilos. De este modo, el agente quelante actúa como modulador del estrés oxidativo, previniendo el daño oxidativo inducido por metales de transición. Este mecanismo se ilustra en la Figura 3, (Garrido, 2018).

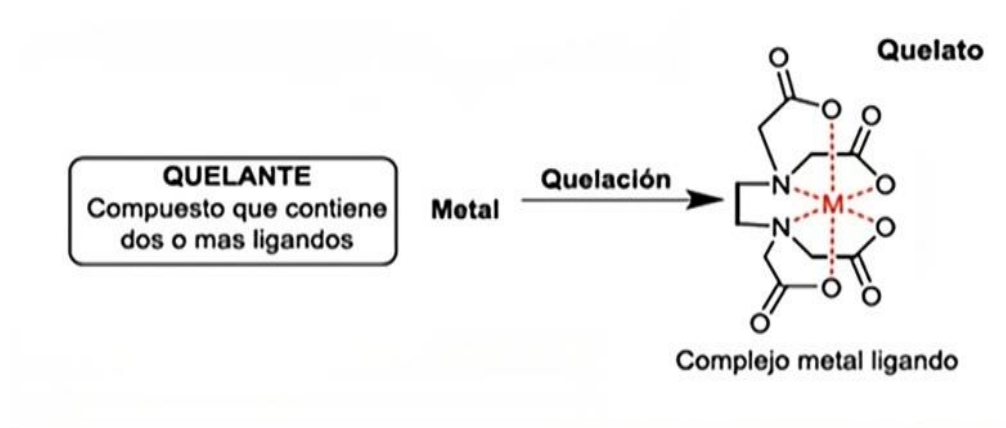


Figura 3: Reacción de quelación de un metal de transición. Tomado de (Garrido, 2018)

- **Captación del radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$)**

El radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) tiene un tiempo de vida extremadamente corto ($\sim 10^{-9}$ s), su detección debe realizarse de forma indirecta. El método más común para su evaluación es mediante su capacidad de oxidar a la desoxirribosa, generando malondialdehído (MDA) como producto secundario. Este compuesto reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA), formando un complejo de color rosa que puede cuantificarse espectrofotométricamente a 532 nm (Valverde, 2014). La intensidad de la coloración obtenida es proporcional a la cantidad de radicales hidroxilos

generados y, por tanto, a la actividad antioxidante del extracto o fracción evaluada (Figura 4).

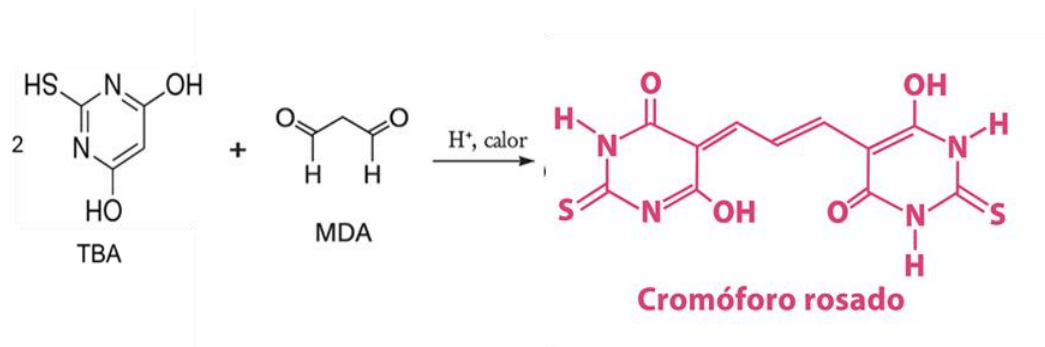


Figura 4: Reacción indirecta de inhibición del radical OH. Adaptado de (Valverde, 2014)

Ensayos celulares *in vitro*

Complementando los ensayos químicos, los modelos celulares *in vitro* permiten evaluar el efecto antioxidante en un contexto más biológicamente relevante.

Estos ensayos consideran la interacción de los compuestos con células vivas, permitiendo estudiar su capacidad para protegerlas del daño oxidativo inducido artificialmente. Algunos de los más utilizados incluyen:

- **Ensayo de citotoxicidad (MTT)**

El ensayo de MTT es una técnica colorimétrica ampliamente utilizada para evaluar la actividad metabólica celular, funcionando como un indicador indirecto de la viabilidad, proliferación y citotoxicidad de las células. Su fundamento radica en la capacidad de las enzimas mitocondriales activas, específicamente la succinato deshidrogenasa, de reducir el bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) a formazán, un compuesto cristalino de color violeta insoluble en agua. Esta conversión ocurre únicamente en células viables con mitocondrias funcionales, por lo que la cantidad de formazán generado es directamente proporcional al número de células vivas.

Tras la incubación con MTT, los cristales de formazán se solubilizan mediante un solvente adecuado, permitiendo la cuantificación del producto formado mediante lectura espectrofotométrica, usualmente a una longitud de onda de 570 nm. Este método permite inferir la supervivencia celular bajo distintas condiciones de

tratamiento, y es ampliamente empleado en estudios de citotoxicidad de compuestos bioactivos (Berridge, 2005) (Figura 5).

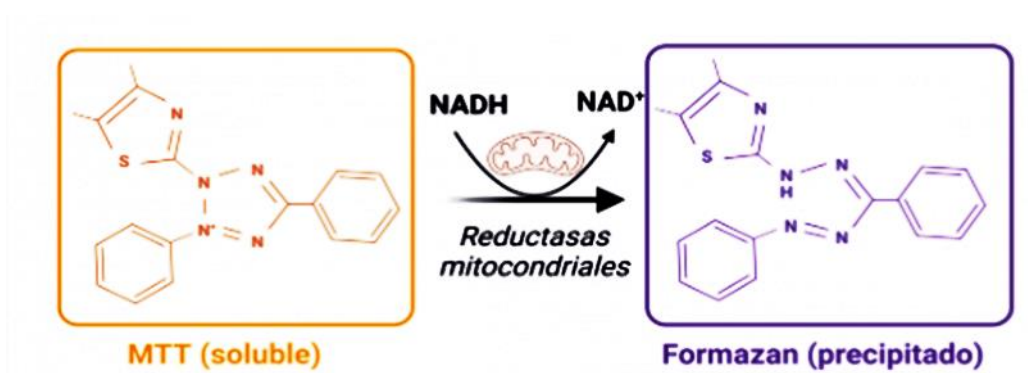


Figura 5: Reducción metabólica del MTT a sal de Formazan. Tomado de (Berridge, 2005)

- **Ensayo de detección de especies reactivas de oxígeno total**

El ensayo con DCFH-DA (2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato) ha sido ampliamente utilizado para la detección de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) intracelular y la evaluación del estrés oxidativo. Este método se basa en el uso

de un compuesto no fluorescente y lipofílico, DCFH-DA, que en su forma de acetato de metilo presenta una relativa polaridad y permeabilidad a la membrana celular. Una vez dentro de la célula, el DCFH-DA es hidrolizado por esterasas intracelulares en un medio ligeramente alcalino, generando el compuesto DCFH, que es un anión carboxilato no fluorescente. Este compuesto se acumula en el citoplasma y, en presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS), particularmente H_2O_2 , sufre una oxidación de dos electrones, convirtiéndose en DCF (diclorofluoresceína), un compuesto altamente fluorescente (Figura 6).

El producto DCF puede ser detectado mediante técnicas fluorimétricas, ya que emite una fluorescencia verde intensa cuando es excitado a una longitud de onda de aproximadamente 485 nm, con emisión a 535 nm. Esta fluorescencia puede ser evaluada cuantitativamente con fluorímetro o visualmente mediante microscopía de fluorescencia, permitiendo así detectar y comparar el grado de estrés oxidativo inducido en las células (Khan, 2018).

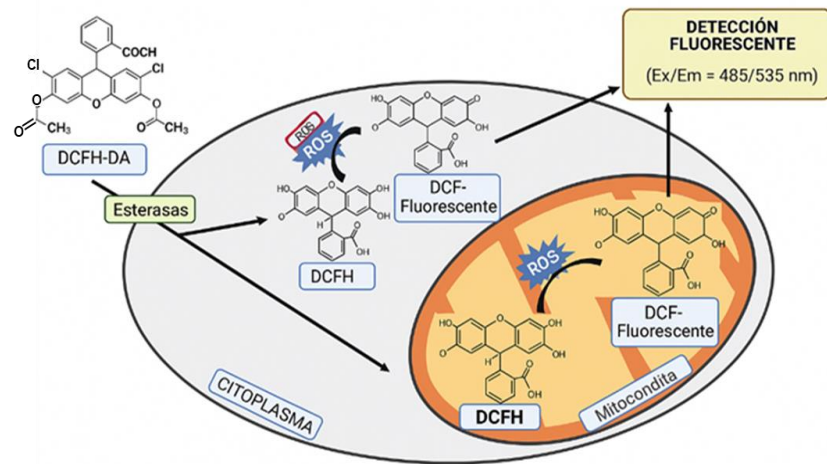


Figura 6: Ensayo DCFH-DA en la célula. Tomada de (Čapek, 2021)

Cuando la generación de especies reactivas supera la capacidad neutralizadora de estos sistemas, se produce una condición conocida como estrés oxidativo (Sies, 2014).

2.2. Estrés Oxidativo

2.2.1. Generalidades

El estrés oxidativo (EO) se define como un desequilibrio entre la producción de radicales libres y otras especies reactivas, y la capacidad del sistema antioxidante para eliminarlas o neutralizarlas de forma eficaz (OMS, 2023). Esta alteración en la homeostasis redox puede deberse tanto a un aumento en la generación de especies reactivas como a una disminución en la eficacia de los mecanismos antioxidantes (Medina, 2010), tal como se representa en la Figura 7.

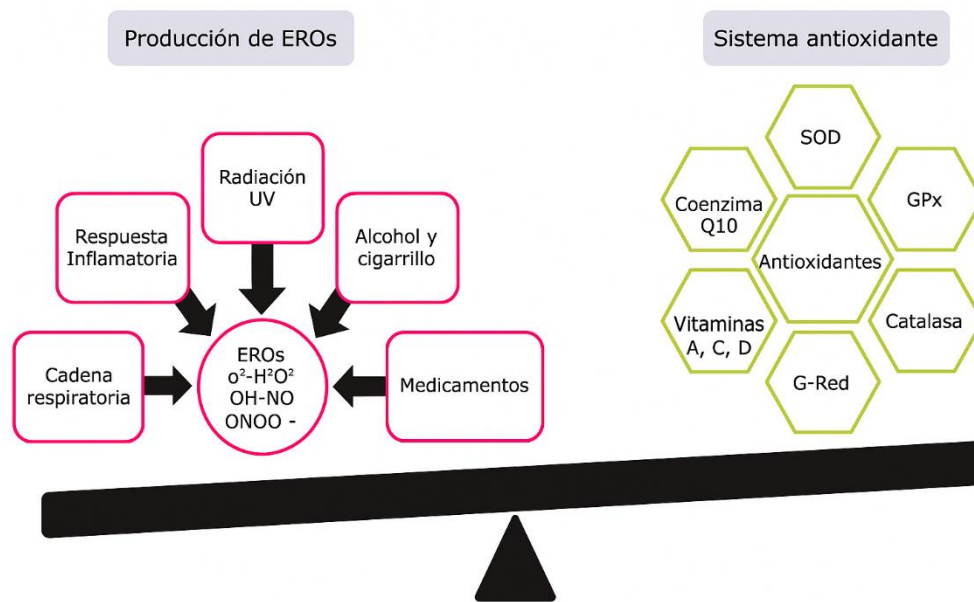


Figura 7: Estrés Oxidativo. Representación del balance que existe entre la producción de especies reactivas y el sistema antioxidante. Tomado de (García, 2015)

Dentro de este contexto, los radicales libres —y en particular las ROS— desempeñan un papel central. Estas especies son productos derivados del oxígeno, caracterizados por estar parcialmente reducidos, lo que les confiere una elevada reactividad. Esta propiedad les permite captar electrones de otras moléculas, generando alteraciones en la estructura y función de componentes celulares clave, tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, comprometiendo así el funcionamiento normal de las células (La Vecchia, 2001).

Las ROS pueden originarse tanto por procesos endógenos como exógenos. En condiciones fisiológicas, la principal fuente endógena corresponde a la cadena respiratoria mitocondrial, donde, durante el metabolismo aeróbico, se generan radicales como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$) (Battisti, 2011; Sosa, 2013). Otra fuente endógena relevante es la respuesta inmunitaria innata, en la que macrófagos y neutrófilos producen ERO como parte de su arsenal antimicrobiano, con el objetivo de destruir agentes patógenos invasores (Sosa, 2013).

De las especies generadas, el radical superóxido se destaca por ser el más prevalente en condiciones de pH fisiológico. A pesar de su inestabilidad, puede desencadenar reacciones en cadena que derivan en la formación de otros radicales altamente reactivos (Roewert-Huber, 2007; Rogers, 2010). Por su parte, el radical hidroxilo se considera la especie más reactiva y citotóxica conocida, con una vida media extremadamente breve (aproximadamente 10^{-9} segundos). Su formación *in vivo* puede inducirse mediante exposición a radiaciones ionizantes de alta energía, como los rayos X o γ , las cuales promueven la ruptura homolítica de moléculas de agua (Roewert-Huber, 2007).

Entre las fuentes exógenas que inducen estrés oxidativo se incluyen la radiación ultravioleta (UV), diversos compuestos químicos presentes en el ambiente (como

contaminantes, alcohol o productos del tabaco), algunos fármacos y la actividad física intensa. Asimismo, bajo condiciones de hipoxia, la cadena respiratoria mitocondrial puede generar no solo ERO, sino también óxido nítrico (NO), un gas reactivo que puede formar especies reactivas de nitrógeno (RNS). Estas, a su vez, amplifican el estrés oxidativo y agravan el daño celular (García, 2015).

2.2.2. Radicales libres y afecciones cutáneas

El progresivo envejecimiento de la población ha conllevado un incremento en la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles, dentro de las cuales destaca el cáncer. Diversos estudios sugieren que la fisiopatogenia de estas enfermedades se encuentra estrechamente relacionada con un desequilibrio entre la producción fisiológica de radicales libres y la capacidad del organismo para contrarrestar sus efectos. Este desbalance genera un estado de estrés oxidativo que ha sido identificado como un factor etiológico clave en la aparición y progresión de múltiples enfermedades crónicas (Rossi, 2007).

En particular, el cáncer cutáneo constituye una de las manifestaciones más comunes, atribuida principalmente a la exposición directa y continua de la piel a factores ambientales, siendo la radiación UV el agente más relevante. Este tipo

de cáncer se clasifica en melanoma y no melanoma, siendo los más frecuentes dentro de este último grupo el carcinoma basocelular (CBC), el carcinoma espinocelular o de células escamosas (CCE), y el carcinoma de células de Merkel (OMS, 2023). En regiones como Australia, se ha reportado que la incidencia del CCE afecta hasta al 40% de la población mayor de 40 años. A nivel nacional, el cáncer de piel no melanoma se ubica como la tercera causa más común de cáncer en hombres y la segunda en mujeres (Carrasco, 2021).

En este contexto, resulta crucial comprender el papel de los radicales libres en la fisiopatología de las afecciones cutáneas generadas por agentes no biológicos y del cáncer cutáneo, particularmente en su forma no melanoma, dada su alta incidencia y repercusión en la salud pública. El estrés oxidativo inducido por la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, en combinación con una respuesta antioxidante insuficiente, representa un eje central en los mecanismos moleculares que favorecen el daño celular, la mutagénesis y, en última instancia, la carcinogénesis. Así, el estudio de estos procesos no solo permite una mejor comprensión etiológica de la enfermedad, sino que también abre nuevas perspectivas para el desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas más eficaces (Morgado, 2021).

2.3. Afeciones cutáneas

2.3.1. Generalidades

La piel constituye la principal barrera de defensa frente a agentes externos de naturaleza biológica y/o química. Entre los principales factores etiológicos implicados en la génesis de enfermedades cutáneas en humanos se encuentran la exposición a contaminantes ambientales, radiación ultravioleta, agentes infecciosos, predisposición genética y respuestas de tipo alérgico (Dayrit, 2022). Estos factores representan amenazas constantes que comprometen la integridad de la barrera cutánea, aumentando su susceptibilidad al desarrollo de múltiples patologías (Chambers, 2020).

La exposición continua a estos agentes nocivos provoca una activación exacerbada de rutas oxidativas e inflamatorias, con un incremento significativo en la producción de especies reactivas de oxígeno y mediadores proinflamatorios. En condiciones fisiológicas, la generación de estos compuestos está estrictamente modulada por mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios endógenos. No obstante, la disrupción de dichos sistemas reguladores favorece el establecimiento de un estado de estrés oxidativo e inflamación crónica, condiciones patológicas que constituyen un eje central en la progresión de diversas enfermedades dermatológicas (Karampinis, 2023).

Las afecciones cutáneas comprenden un espectro clínico amplio y heterogéneo de alteraciones que afectan la estructura, función o integridad de la piel. Estas patologías pueden manifestarse mediante lesiones primarias—como máculas, pápulas, vesículas y nódulos—o secundarias—como costras, escamas, ulceraciones y liquenificación (Figura 8). Su etiología abarca causas infecciosas, inflamatorias, autoinmunes, alérgicas, neoplásicas, metabólicas y ambientales, reflejando la complejidad multifactorial del sistema tegumentario y su interacción dinámica con el entorno.(Scholtissek, 2017).



Figura 8: Afecciones cutáneas a nivel celular y su aspecto físico. Adaptado de (Hueso, 2018)

Las enfermedades cutáneas exhiben una alta prevalencia a nivel global, afectando a individuos de todos los grupos etarios y contextos geográficos. No obstante, la distribución, severidad y tipología de las lesiones presentan variaciones significativas en función de factores genéticos, ambientales y socioeconómicos (Guertin, 2016). Estas patologías pueden manifestarse en formas clínicas agudas o crónicas, y su impacto en la salud depende no solo de la morfología de la lesión, sino también de su localización anatómica, extensión cutánea comprometida y síntomas concomitantes, como prurito, dolor o disfunción epidérmica (Cao, 2024).

Desde una perspectiva epidemiológica, enfermedades como la dermatitis atópica, la psoriasis, el acné vulgar, la queratosis actínica y el cáncer cutáneo constituyen una carga sanitaria sustancial, no solo por su elevada frecuencia, sino también por su tendencia a la recurrencia, las complicaciones clínicas asociadas y el impacto económico que generan en los sistemas de salud pública. Estas afecciones no solo deterioran la calidad de vida del paciente, sino que también demandan una atención médica constante y recursos terapéuticos prolongados (Langan, 2020).

Las patologías dermatológicas representan una de las principales causas de consulta en atención primaria a nivel mundial. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, aproximadamente un tercio de la población global ha

presentado, en algún momento de su vida, algún tipo de afección cutánea. (Jones, 2019). En el contexto chileno, si bien no se dispone de registros epidemiológicos consolidados que permitan establecer una incidencia nacional precisa, las enfermedades dermatológicas representan una elevada carga clínica. En particular, durante el año 2022, se reportaron más de 530 fallecimientos por cáncer cutáneo, tanto melanoma como no melanoma, configurando la cifra más alta en las últimas dos décadas (Sapunar, 2022).

Las regiones del norte del país, como Arica y Parinacota, y Antofagasta, presentan las tasas más elevadas de incidencia, atribuibles en gran medida a la alta exposición a radiación ultravioleta. Asimismo, la región del Biobío ha registrado tasas de mortalidad superiores al promedio nacional, lo que refuerza la hipótesis de que los niveles de exposición solar representan un factor determinante en la aparición y evolución del cáncer de piel en estas zonas (Rivas, 2020).

2.3.2. Clasificación de las afecciones cutáneas generadas por agentes no biológicos

El estrés oxidativo y la inflamación constituyen mecanismos fisiopatológicos fundamentales en el desarrollo y progresión de una amplia variedad de enfermedades cutáneas. Aunque difieren en su base bioquímica, ambos procesos están estrechamente interrelacionados y participan de forma sinérgica en la perpetuación del daño tisular. El desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad antioxidante endógena desencadena una cascada de eventos celulares que activa vías proinflamatorias, mientras que la inflamación sostenida promueve la generación adicional de radicales libres. Esta retroalimentación patológica establece un ciclo vicioso que agrava la disfunción estructural y funcional de la piel, facilitando la aparición de manifestaciones clínicas persistentes y resistentes al tratamiento convencional. (Figura 9) (Yang, 2024).

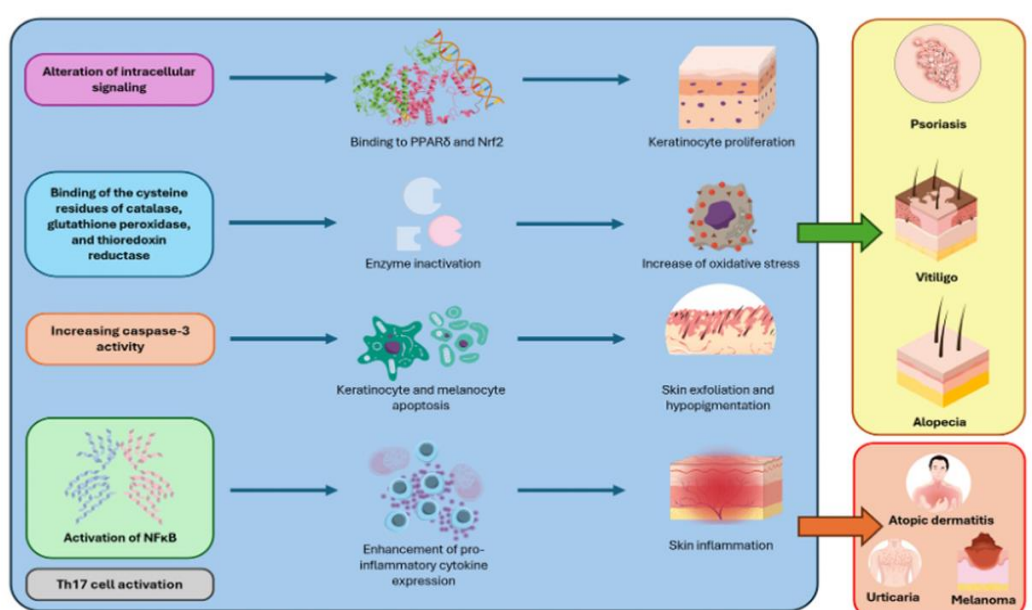


Figura 9: Representación esquemática de la dermatoscopia de las afecciones cutáneas. Tomado de (Chadha, 2020)

Desde una perspectiva clasificatoria, las enfermedades dermatológicas asociadas al estrés oxidativo y la inflamación pueden agruparse en cuatro categorías principales, según su etiopatogenia, manifestaciones clínicas y mecanismos moleculares predominantes: enfermedades inflamatorias crónicas, dermatosis fotoinducidas, trastornos pigmentarios y alteraciones del envejecimiento cutáneo (Krajina, 2022).

- Enfermedades inflamatorias crónicas de la piel

Este grupo se caracteriza por la activación persistente del sistema inmunitario cutáneo y una producción sostenida de especies reactivas de oxígeno (ROS) y citoquinas proinflamatorias. Patologías como la dermatitis atópica, psoriasis, rosácea y lupus eritematoso cutáneo representan entidades prototípicas de esta categoría. En estos trastornos, la disfunción de los mecanismos antioxidantes favorece la acumulación intracelular de ROS, que activan cascadas de señalización como NF- κ B y MAPK. Estas vías inducen la expresión de mediadores inflamatorios clave, tales como TNF- α , IL-1 β e IL-6, los cuales perpetúan el microambiente inflamatorio y ocasionan daño oxidativo en lípidos, proteínas y ADN, comprometiendo la homeostasis y la integridad de la epidermis.(A. Liu, Zhao, W., Zhang, B.-X., Tu, Y., Wang, Q., & Li, J, 2020).

- Dermatitis foto inducidas

Las dermatitis provocadas por radiación ultravioleta (UV) comprenden un conjunto de afecciones en las que el estrés oxidativo actúa como principal mecanismo patogénico. Ejemplos representativos incluyen la fotodermatitis, el eritema solar, la elastosis solar, la queratosis actínica y los carcinomas cutáneos inducidos por radiación UV. La exposición UV genera ROS en queratinocitos y

fibroblastos dérmicos, lo que conlleva modificaciones estructurales en el colágeno y la elastina, mutaciones en genes supresores tumorales como p53 y activación de factores transcripcionales proinflamatorios. Estos eventos desencadenan inflamación local, degradación de la matriz extracelular y disfunción celular progresiva (Melnikova, 2005).

- Trastornos pigmentarios asociados al daño oxidativo

El estrés oxidativo desempeña un papel fundamental en la disfunción melanocítica, siendo responsable tanto de fenómenos de hiperpigmentación como de despigmentación. Afecciones como el melasma, la hiperpigmentación postinflamatoria y el vitíligo están estrechamente vinculadas al desequilibrio redox. En el melasma y procesos hiperpigmentación, el estímulo crónico de ROS activa la tirosinasa y factores reguladores como MITF, intensificando la melanogénesis. La inflamación paralela incrementa la liberación de prostaglandinas y leucotrienos, potenciando la actividad melanocítica (Katiyar, 2024). Por otro lado, en el vitíligo, la sobreproducción de ROS induce apoptosis de melanocitos y promueve una respuesta autoinmune dirigida contra estas células, resultando en despigmentación focal o extensa (Jimbow, 2001).

- Alteraciones del envejecimiento cutáneo

El envejecimiento de la piel ya sea intrínseco o inducido por factores externos (fotoenvejecimiento), constituye una condición multifactorial asociada estrechamente al estrés oxidativo y a una inflamación crónica de bajo grado. La disfunción mitocondrial progresiva en los fibroblastos dérmicos incrementa la generación de ROS, lo que activa metaloproteinasas de matriz (MMPs), responsables de la degradación del colágeno y la elastina. Esta pérdida de integridad estructural se ve acompañada de una reducción en la síntesis de componentes de la matriz extracelular. En paralelo, el fenómeno conocido como *inflammaging* implica la secreción sostenida de citoquinas senescentes, que perpetúan el daño dérmico. Clínicamente, estas alteraciones se manifiestan como arrugas, flacidez, sequedad, alteraciones pigmentarias y compromiso de la función barrera (Fisher, 2009).

Cabe señalar que esta clasificación no es excluyente ni exhaustiva; múltiples entidades clínicas presentan superposición de mecanismos patogénicos y fenotipos atípicos. Sin embargo, este enfoque permite delimitar marcos conceptuales que facilitan la comprensión de la complejidad etiopatogénica y, simultáneamente, orientan el desarrollo de intervenciones terapéuticas más específicas. El reconocimiento de estas categorías es esencial para la

implementación de estrategias dirigidas a modular vías oxidativas e inflamatorias, restaurar la homeostasis redox y promover una salud cutánea sostenible a largo plazo.

2.3.3. Factores de riesgo de las afecciones cutáneas

La piel, en su función de barrera primaria entre el organismo y el entorno externo, se encuentra expuesta de manera constante a una diversidad de factores exógenos no biológicos con elevado potencial citotóxico. Estos agentes incluyen UV, contaminantes atmosféricos, metales pesados, humo de tabaco, micropartículas en suspensión, compuestos orgánicos volátiles (COV), ozono troposférico y variaciones térmicas extremas (Figura 10). La interacción de dichos estímulos con las células epidérmicas y dérmicas activa complejas respuestas moleculares, entre las cuales el estrés oxidativo y la inflamación constituyen los principales ejes fisiopatogénicos (Puri, 2017).

Entre los factores no biológicos más estudiados destaca la radiación ultravioleta, particularmente los espectros UVB (280–315 nm) y UVA (315–400 nm), que penetran las capas superficiales y profundas de la piel, respectivamente. La

exposición a esta radiación induce la formación de ROS de manera directa, además de provocar alteraciones genómicas mediante la inducción de dímeros de pirimidina y mutaciones puntuales en oncogenes y genes supresores tumorales, como p53. La exposición solar crónica sin protección adecuada se reconoce como uno de los principales factores de riesgo para el envejecimiento cutáneo prematuro, la disfunción melanocítica y la carcinogénesis cutánea (Montero, 2023).

La contaminación atmosférica representa otro conjunto relevante de agentes nocivos. Partículas finas en suspensión (PM 2.5), dióxido de nitrógeno (NO₂), ozono troposférico (O₃) y compuestos orgánicos volátiles son capaces de depositarse sobre la superficie cutánea, siendo absorbidos parcialmente o interaccionando con componentes lipídicos del estrato córneo. Estos compuestos inducen procesos de peroxidación lipídica, alteraciones en la función de la barrera epidérmica y activación de receptores de membrana como el receptor arilo de hidrocarburos (AhR), lo que desencadena cascadas inflamatorias y estrés oxidativo intracelular. El ozono troposférico, en particular, ha demostrado reducir los niveles cutáneos de antioxidantes endógenos, como la vitamina E y la coenzima Q10, comprometiendo así la capacidad de defensa antioxidante de la piel (Schikowski, 2020). Estas alteraciones explican la correlación entre la exposición crónica a polución urbana y un mayor riesgo de manifestaciones

clínicas como arrugas, hiperpigmentación, eritema persistente e hipersensibilidad dérmica (Sieradocha, 2024).

El humo de tabaco constituye otro factor ambiental relevante, caracterizado por su composición compleja que incluye radicales libres, metales pesados, aldehídos reactivos y benzopirenos. Su contacto dérmico, tanto directo como indirecto, provoca efectos deletéreos sobre la arquitectura de la matriz extracelular, al inducir la actividad de metaloproteinasas (MMPs), reducir la síntesis de colágeno tipo I, promover la vasoconstricción dérmica e inhibir la proliferación de fibroblastos. Clínicamente, estas alteraciones se manifiestan como pérdida de elasticidad, tono cutáneo apagado, líneas finas y retraso en la cicatrización de heridas. Además, el humo de tabaco se ha asociado con una mayor incidencia y severidad de enfermedades inflamatorias crónicas de la piel, como la psoriasis, y con una disminución de la capacidad regenerativa tisular (Morita, 2007).

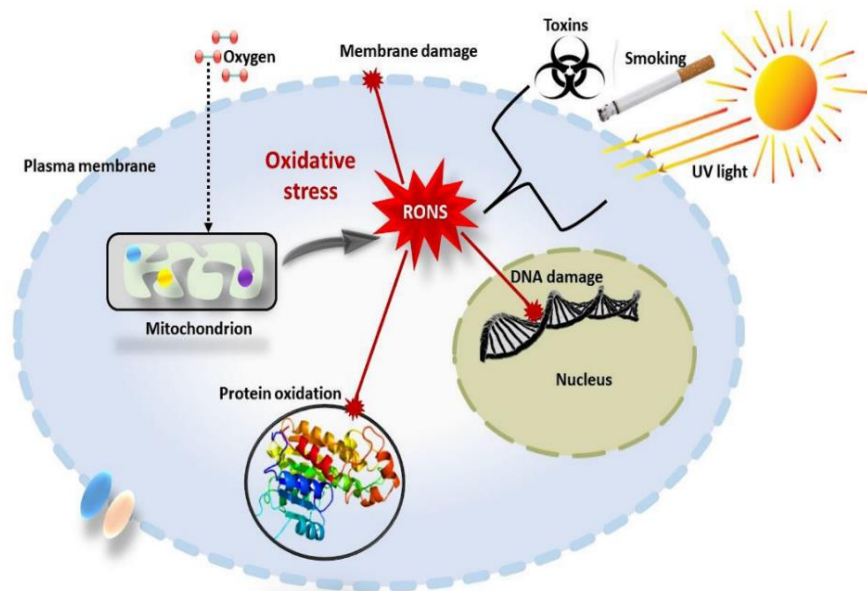


Figura 10: Representación esquemática de los factores de riesgo relacionados con las afecciones cutáneas. Tomado de (Birch-Machin, 2020)

En conjunto, la exposición continua a estos agentes no biológicos representa un desafío significativo para la salud cutánea, al inducir procesos moleculares que alteran la homeostasis epidérmica y aceleran el deterioro estructural. La comprensión de estos mecanismos resulta esencial para el diseño de estrategias preventivas y terapéuticas que mitiguen los efectos del entorno en la fisiología cutánea. En este contexto, resulta imperativo desarrollar estrategias preventivas

y terapéuticas dirigidas que permitan mitigar los efectos deletéreos de estos estímulos exógenos. Esta perspectiva sustenta la pertinencia de impulsar líneas de investigación centradas en el diseño y evaluación de nuevas formulaciones cosméticas con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y fotoprotectoras, capaces de fortalecer la resistencia cutánea frente a agresores ambientales no biológicos y preservar su integridad funcional a largo plazo.

2.3.4. Tratamientos

El abordaje terapéutico de las enfermedades cutáneas inducidas por ROS o procesos inflamatorios crónicos exige una estrategia integral que contemple tanto la modulación del microentorno redox como la inhibición selectiva de las cascadas inflamatorias activadas en el tejido cutáneo. Estas patologías, caracterizadas por una disrupción sostenida de la homeostasis oxidativa e inmunológica, comparten mecanismos fisiopatológicos comunes que pueden ser interceptados mediante intervenciones tópicas y sistémicas orientadas a reducir la carga oxidativa, restaurar la función barrera epidérmica y regular la expresión de mediadores clave, como citoquinas proinflamatorias, MMPs y factores de transcripción redox-sensibles (Helwa, 2017).

Una de las principales líneas terapéuticas incluye el uso de antioxidantes tópicos y sistémicos, dirigidos a neutralizar directamente las ROS e inducir la reactivación de sistemas antioxidantes endógenos. Moléculas bioactivas como el ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), niacinamida, ácido ferúlico, coenzima Q10 y resveratrol han demostrado eficacia en la reducción del estrés oxidativo dérmico, la prevención de la peroxidación lipídica y la mejora de la integridad de la matriz extracelular. Su utilidad ha sido particularmente documentada en el manejo del fotoenvejecimiento, la hiperpigmentación postinflamatoria, la rosácea y las dermatosis inducidas por contaminantes atmosféricos (Tran, 2023).

En el contexto inflamatorio, los antiinflamatorios tópicos constituyen la piedra angular del tratamiento de enfermedades como la psoriasis, la dermatitis atópica, la rosácea y el lupus eritematoso cutáneo. Los corticosteroides tópicos, de distintas potencias, actúan suprimiendo la respuesta inflamatoria mediante la inhibición de la fosfolipasa A2 y, en consecuencia, la reducción en la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos. Sin embargo, su uso prolongado conlleva riesgos de efectos adversos, como atrofia epidérmica, telangiectasias y disfunción de la barrera cutánea (Gisondi, 2005).

Otro enfoque terapéutico relevante lo constituye el uso de agentes restauradores de la barrera cutánea, como ceramidas, escualeno, ácido hialurónico y lípidos

fisiológicos, cuya acción se orienta a fortalecer la integridad del estrato córneo, reducir la pérdida transepidérmica de agua (TEWL) y limitar la penetración de agentes oxidantes y proinflamatorios. Estas formulaciones son fundamentales en el manejo de la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto y en pieles sensibilizadas, donde la restauración de la barrera constituye una condición previa indispensable para lograr un control clínico sostenido (Carneiro, 2011).

La fototerapia, especialmente con radiación ultravioleta B de banda estrecha (UVB-NB), representa una opción terapéutica eficaz en enfermedades inmunomediadas como la psoriasis, el vitiligo y la dermatitis atópica. Este abordaje actúa mediante la inducción de apoptosis en linfocitos T infiltrantes, la modulación de citoquinas proinflamatorias y la promoción de una respuesta inmunorreguladora local, con un perfil de seguridad favorable en pacientes seleccionados (Vieyra-García, 2020).

Por otra parte, los tratamientos combinados que integran antioxidantes, antiinflamatorios y agentes fotoprotectores permiten abordar de forma sinérgica las múltiples vías fisiopatológicas implicadas en afecciones complejas como el melasma, la queratosis actínica y el fotoenvejecimiento. Estas estrategias han demostrado mejorar los resultados terapéuticos, reducir la tasa de recurrencia y mejorar la tolerabilidad del tratamiento (Li Pomi, 2025). En este contexto, el uso de protectores solares con filtros físicos (óxido de zinc, dióxido de titanio) y

químicos (avobenzona, octocrileno), enriquecidos con antioxidantes, se consolida como una intervención transversal esencial para la prevención y el tratamiento de dermatosis inducidas por ROS. Estos productos protegen estructuras celulares críticas como el ADN, las proteínas de matriz y los lípidos de membrana contra el daño fotoinducido (Tilotta, 2020).

No obstante, las actuales estrategias terapéuticas presentan limitaciones. Los antioxidantes pueden exhibir inestabilidad química, baja biodisponibilidad cutánea y eficacia clínica variable. Los corticosteroides tópicos, aunque efectivos en el corto plazo, están asociados a reacciones adversas locales y tolerancia farmacológica. Los inmunomoduladores sistémicos, como los inhibidores de IL-17 o TNF- α , implican costos elevados, riesgo de eventos adversos sistémicos y requerimientos de monitoreo continuo. Los agentes reparadores de la barrera exigen un uso prolongado y muestran eficacia limitada en fases inflamatorias agudas. La fototerapia, por su parte, conlleva el riesgo de fotodaño acumulativo y presenta barreras logísticas que limitan su accesibilidad. Las terapias combinadas, aunque prometedoras, pueden inducir fenómenos de irritación cutánea, interacciones bioquímicas inesperadas y dificultades en la adherencia terapéutica (Lerche, 2010).

En función de estas consideraciones, resulta indispensable el desarrollo de alternativas terapéuticas innovadoras que no solo resulten eficaces en la remisión

de lesiones, sino que también integren dimensiones estéticas, preventivas y sostenibles. En este escenario, la investigación de productos naturales con potencial farmacológico ha emergido como un campo de creciente interés dando una valorización a los recursos naturales subutilizados bajo un enfoque sustentable, con potencial aplicación en el desarrollo de formulaciones dermocosméticas de última generación.

2.4. *Nicotiana Tabacum L.*

2.4.1. Generalidades

Nicotiana tabacum L., comúnmente conocida como tabaco, es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia *Solanaceae*. Aunque existen más de 50 especies descritas dentro del género *Nicotiana*, solo dos son cultivadas con fines comerciales: *Nicotiana tabacum* y *Nicotiana rustica*, las cuales engloban la totalidad de las variedades cultivadas en el mundo (Tissier, 2012).

El nombre del género proviene de Jean Nicot, médico y diplomático francés en Portugal, quien introdujo el tabaco en Europa durante el siglo XVI, promoviendo su uso con fines medicinales (Figura 11) (Vallecilla, 2013). Históricamente, los pueblos originarios de América atribuían al tabaco un valor ritual y terapéutico significativo, considerándolo parte esencial de su vida cultural y espiritual. Esta

planta era empleada en ceremonias sociales, religiosas y políticas, y su cultivo era prioritario dentro de sus comunidades (Luck, 2009).



Figura 11: *Nicotiana Tabacum* L. Adaptado de (Espino, 2009)

Los métodos tradicionales de consumo incluían la masticación de hojas y la ingestión del jugo de la planta. En la actualidad, su principal uso industrial está orientado a la elaboración de productos como cigarros, puros y tabaco para liar.

2.4.2. Taxonomía

A partir del año 1559, el uso del tabaco se expandió en diversas formas, y su denominación se consolidó en la cultura y en la literatura botánica. Posteriormente, en 1753, el naturalista sueco Carl Linnaeus realizó la primera descripción formal de la planta, asignándole el nombre científico *Nicotiana tabacum* L., nomenclatura que se mantiene vigente hasta la actualidad (Chaverri, 1995).

A lo largo del tiempo, numerosos naturalistas y botánicos han mostrado un profundo interés en el estudio del género *Nicotiana*, identificando una considerable variabilidad genética dentro del mismo. Este reconocimiento ha permitido establecer agrupaciones más amplias, basadas en características morfoanatómicas y criterios generales de clasificación.

Desde una perspectiva científica, *Nicotiana tabacum* L. ha sido objeto de múltiples estudios que, apoyados en la taxonomía botánica y en los principios de la sistemática moderna, han permitido una clasificación precisa de esta especie dentro del reino vegetal (León, 2000). La clasificación taxonómica de *Nicotiana tabacum* L. se presenta a continuación:

Reino: *Plantae*
División: *Magnoliophyta*
Sub-División: *Magnoliophytina*
Clase: *Magnoliopsida*
Subclase: *Asteridae*
Orden: *Solanales*
Familia: *Solanaceae*
Género: *Nicotiana*
Especie: *Nicotiana tabacum* L.

Nicotiana tabacum L. es una planta originaria del continente americano que presenta un hábito de crecimiento compacto y frondoso, cuya extensión y profundidad del sistema radicular puede alcanzar aproximadamente los 30 cm, dependiendo de la variedad cultivada. Posee una raíz fibrosa, mientras que su tallo, de entre 50 y 120 cm de altura, es leñoso en la base y flexible en la parte superior. Este tallo se caracteriza por estar recubierto de pubescencia y por la secreción de una sustancia viscosa de naturaleza pegajosa (Berbeć, 2023).

Las hojas son de disposición alterna, grandes y de forma lanceolada. Son sésiles, es decir, carecen de pecíolo, y presentan una superficie glutinosa, especialmente en la cara superior, la cual está cubierta de vellosidades que segregan un aceite pegajoso característico. Las inflorescencias son paniculadas, compuestas por múltiples ejes florales. Cada flor presenta un cáliz tubular conformado por cinco sépalos, y una corola de color blanco en la base y rosado en su porción superior.

La corola adopta una forma campanulada que culmina en cinco lóbulos desiguales (Berbecé, 2023).

El fruto es una cápsula de forma ovalada que contiene una gran cantidad de semillas, pudiendo albergar alrededor de 3000 por cápsula. Las semillas son de tamaño muy reducido (entre 450 y 700 micras de longitud), con una superficie reticulada característica. Toda la planta exhala un olor penetrante y posee propiedades narcóticas (Yong, 2007) (Figura 12).

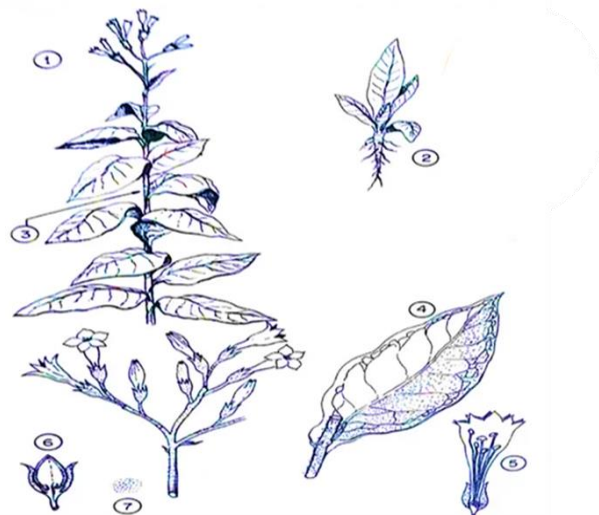


Figura 12: Partes de la planta de tabaco: 1, planta de tabaco; 2, raíz de la planta; 3, tallo; 4, hoja; 5, flor y panícula terminal; 6, capsula; 7, semillas. Tomado de (Tabaco, 2016)

2.4.3. Distribución de especies de *Nicotiana tabacum* L. en Chile

En Chile, el cultivo de tabaco representa una de las primeras actividades agrícolas industriales introducidas en el país, desempeñando un rol fundamental en el desarrollo socioeconómico de determinadas zonas rurales, especialmente en las regiones del centro-sur. Su importancia es particularmente notable en las regiones del Libertador General Bernardo O'Higgins y del Maule, donde se concentra la mayor parte de la producción nacional.

En la Región del Maule, comunas como Río Claro, Pelarco, Hualañé, San Clemente y Linares constituyen zonas clave para el cultivo, generando aproximadamente el 33% del total de hojas de tabaco del país. En tanto, en la Región de O'Higgins, destacan las comunas de Chimbarongo, Nancagua y Santa Cruz, responsables de cerca del 59 % de la producción nacional (Karen, 2024).

La superficie total destinada al cultivo de tabaco en Chile se estima en unas 1,800 hectáreas, cultivadas principalmente por pequeños agricultores. En cuanto al destino de la producción, se calcula que el 60% se destina al consumo interno, mientras que el 40% restante se exporta a diversos mercados latinoamericanos, entre ellos Colombia, Perú, Paraguay y Costa Rica.

2.4.4. Usos no convencionales del Tabaco

En las últimas décadas, las campañas internacionales contra el tabaquismo han cobrado gran relevancia, promoviendo una disminución progresiva del consumo de productos derivados del tabaco fumable. En este contexto, iniciativas lideradas por organismos como la OMS, que conmemora cada 31 de mayo el Día Mundial Sin Tabaco, buscan concienciar sobre los efectos perjudiciales del consumo de tabaco para la salud pública y promover políticas activas para su reducción (Castaño, 2011).

Frente a esta realidad, se ha incrementado el interés científico por reorientar el uso de la planta de tabaco hacia fines alternativos y no fumables, que representen beneficios potenciales para la salud humana, la industria biotecnológica y el desarrollo sostenible. Esta estrategia no solo responde a una necesidad de reconversión productiva, sino también a una oportunidad para revalorizar un cultivo históricamente estigmatizado.

Actualmente, el uso no convencional de *Nicotiana tabacum* L. está ampliamente documentado, especialmente en el ámbito de la biotecnología vegetal. Esta especie se destaca por su alta eficiencia en transformación genética, así como por su adaptabilidad al cultivo *in vitro*, lo que la convierte en una plataforma ideal

para la producción de biomoléculas de interés terapéutico. Entre los usos más relevantes se incluye la generación de fármacos recombinantes, vacunas, anticuerpos monoclonales y otras proteínas bioactivas, incluidas aquellas con aplicaciones en oncología (Geda, 2010) (Figura 13).

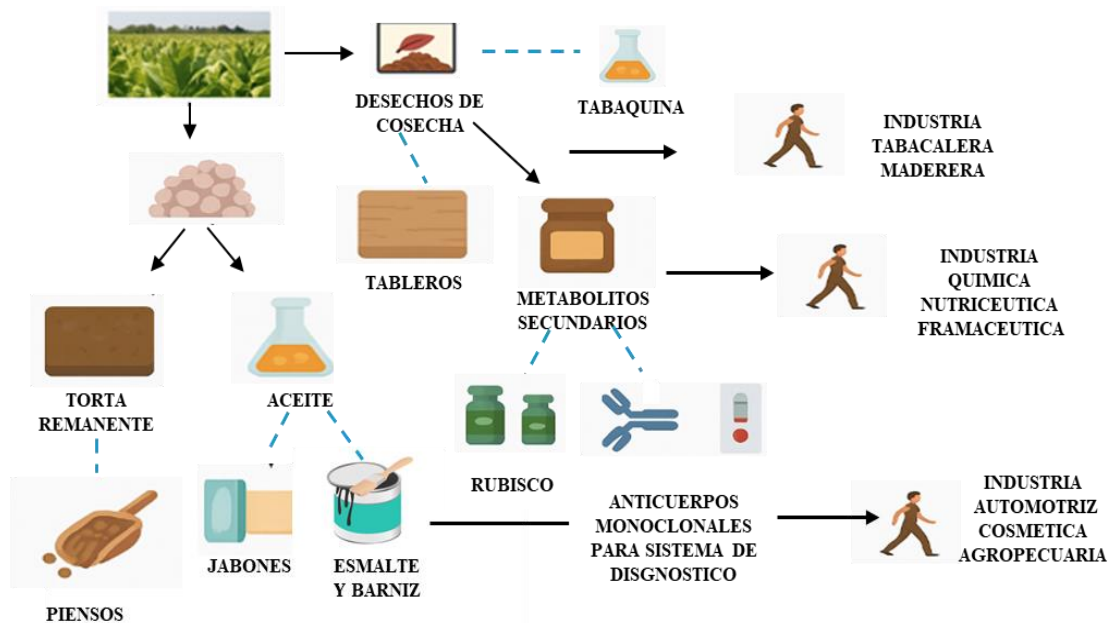


Figura 13: Usos no convencionales del tabaco. Adaptado de (Geda, 2010)

Otros usos no convencionales del tabaco incluyen la producción de nicotina y sus derivados a partir de los desechos generados en la industria tabacalera, los

cuales han sido empleados históricamente como insecticidas, particularmente en forma de extractos conocidos como tabaquina (Tricker, 2006). Además, los tallos de la planta han sido utilizados como fuente alternativa para alimentación animal, y tanto las semillas como las hojas han sido estudiadas para la obtención de aceites, con potencial aplicación en la industria alimentaria y cosmética (Tso, 2006), También se ha explorado el uso del tabaco en la producción de proteínas de interés para el consumo humano y en la generación de esencias aromáticas. Sin embargo, muchas de estas aplicaciones involucran compuestos derivados del metabolismo secundario de la planta, cuyos efectos y potenciales beneficios aún no han sido completamente investigados ni validados mediante estudios sistemáticos.

2.4.5. Fitoquímica y actividad biológica

Las hojas de *Nicotiana tabacum* L. contienen una amplia variedad de compuestos químicos, muchos de los cuales, durante el proceso de combustión y pirólisis asociado al consumo fumable, se transforman en sustancias con potencial tóxico y carcinogénico para el ser humano. No obstante, esta misma riqueza fitoquímica representa una fuente poco explorada de metabolitos con aplicaciones industriales y farmacéuticas.

Gran parte de los compuestos de interés presentes en el tabaco son productos del metabolismo secundario, y en las últimas décadas se han desarrollado investigaciones que apuntan a su aprovechamiento con fines terapéuticos, biotecnológicos y cosmeceúticos (Zhao, 2015). A pesar de ello, los metabolitos secundarios del tabaco han sido escasamente estudiados en comparación con otros cultivos, constituyendo un campo con alto potencial de innovación.

Uno de los primeros estudios relevantes en este ámbito se remonta al año 1828, cuando los químicos alemanes Posselt y Reimann, en la Universidad de Heidelberg, aislaron de esta planta un alcaloide al que denominaron nicotina, en honor a Jean Nicot, quien introdujo el tabaco en Europa (Posselt, 1828). Desde entonces, se han identificado otros compuestos relevantes, entre ellos el solanesol, rutina, ácido clorogénico, carotenos, escopolaminas y esclerol, los cuales pertenecen a distintas familias de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas (Williams, 2004).

En la literatura científica, se ha señalado que el solanesol corresponde al terpenoide más abundantemente sintetizado por la planta de tabaco, mientras que dentro del grupo de flavonoides destaca la rutina; ambos con reconocidas propiedades antioxidantes (N. Yan, 2015).

2.5. Solanesol

2.5.1. Propiedades físico- químicas

El solanesol es un alcohol terpenoide de cadena abierta, constituido por nueve unidades isoprenoides, lo que le confiere a la estructura propiedades hidrofóbicas. Su fórmula molecular es $C_{45}H_{74}O$, con un peso molecular de 647,086 g/mol. A temperatura ambiente, se presenta como un sólido blanquecino, que al disolverse puede adquirir una tonalidad amarillenta clara. Es apolar o débilmente polar, prácticamente insoluble en agua, soluble en metanol y etanol, y completamente soluble en solventes apolares como hexano, cloroformo y éter de petróleo (W. Huang, 2008).

El aislamiento e identificación del solanesol a partir del tabaco fue realizado por R.L. Rowland en 1956, quien extrajo este compuesto de hojas de tabaco curado tipo Virginia empleando metanol y éter. A través de un proceso de cromatografía líquida, logró fraccionar los extractos, identificando al solanesol como la fracción más abundante entre los componentes solubles en disolventes orgánicos (Agrupis, 2000). La estructura química de este compuesto se presenta en la Figura 14.

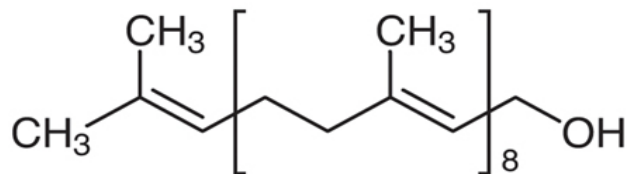


Figura 14: Estructura química del solanesol. Tomado de (Sridevi, 2017)

2.5.2. Presencia y contenido de solanesol en solanáceas

Aunque el solanesol se encuentra presente en diversas especies de la familia *Solanaceae*, como las hojas de papa (*Solanum tuberosum*), berenjena (*Solanum melongena*), pimiento (*Capsicum annuum*) y tomate (*Solanum lycopersicum*), su concentración en estas plantas es relativamente baja, oscilando entre 0,04 y 0,4% en base seca. En contraste, *Nicotiana tabacum L.* presenta los niveles más elevados de este terpenoide, especialmente en sus hojas, donde puede alcanzar concentraciones de hasta el 4% del peso seco en variedades de tabaco tipo FCV (Flue-Cured Virginia) (Tita, 2021).

Dado que la síntesis química del solanesol resulta compleja y poco rentable, su obtención se realiza principalmente a partir de fuentes vegetales, siendo el tabaco la especie más relevante en este sentido (Ishida, 2015).

El contenido de solanesol en el tabaco está influenciado por múltiples factores, entre los cuales destacan los genéticos. Por ejemplo, las variedades Burley y Negro presentan concentraciones significativamente mayores que el tabaco tipo FCV. Asimismo, diversos factores agronómicos y ambientales afectan su acumulación, incluyendo las prácticas de cultivo, la posición de las hojas en la planta (superiores, medias o bajas), las condiciones climáticas de la temporada, el estrés hídrico, la etapa de senescencia foliar, el proceso de curado, el desflorado y el tipo de fertilización, especialmente la disponibilidad de nitrógeno (N. Yan, 2015).

En cuanto a su forma de almacenamiento en la planta, el solanesol puede encontrarse tanto en estado libre como en forma de ésteres de solanesilo. En variedades como el tabaco Burley, el proceso de curado incrementa la proporción de solanesol libre, lo que constituye una ventaja desde el punto de vista extractivo. A pesar de la variabilidad reportada en la literatura respecto al porcentaje de solanesol esterificado (hasta un 68% en algunos casos), este puede ser transformado fácilmente a su forma libre mediante un proceso de

saponificación, sin representar mayores complicaciones para su obtención (Tita, 2021).

2.5.3. Actividad farmacológica

El solanesol ha suscitado un creciente interés en el ámbito farmacéutico debido a su papel como precursor en la síntesis de compuestos bioactivos de alto valor terapéutico, como la coenzima Q10 y la vitamina K2. La coenzima Q10 se emplea ampliamente como suplemento nutricional, con beneficios asociados al control de la presión arterial y la regulación de la glucosa en pacientes diabéticos, mientras que la vitamina K2 se utiliza principalmente en el tratamiento de la osteoporosis (Qin, 2017).

Además de su uso como intermediario sintético, se han documentado diversas actividades biológicas del solanesol, incluyendo efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antibacterianos, antivirales y cardiotónicos (Bai, 2014). Estos efectos han sido corroborados por varios estudios experimentales:

- W. Huang (2008) evaluó extractos de tabaco obtenidos mediante extracción con CO₂ supercrítico y por calentamiento a reflujo, concluyendo que la capacidad antioxidante aumentaba proporcionalmente con el contenido de solanesol, especialmente cuando este alcanzaba concentraciones cercanas al 3%.
- Bai (2014) demostró que el solanesol puede absorber radicales generados por la radiación solar y además inhibir la actividad de la tirosinasa, una enzima implicada en trastornos pigmentarios.
- En estudios realizados por X. Yao (2015), se identificaron propiedades hepatoprotectoras del solanesol, así como efectos positivos en la proliferación de células hepáticas y en la inhibición de bacterias patógenas, tanto grampositivas como gramnegativas.
- Qin (2017) diseñó una formulación de micelas que incorporaban solanesol como fotoprotector de la coenzima Q10, logrando preservar un 88% de esta molécula tras 25 horas de exposición a luz solar directa.
- Finalmente, Pingali (2017) reportó que el uso de solanesol como excipiente en sistemas de liberación de fármacos contra el cáncer no solo reducía los

efectos secundarios asociados a otros portadores, sino que también potenciaba su eficacia mediante un efecto sinérgico.

2.5.4. Mecanismos de acción para su actividad biológica

Los mecanismos de acción del solanesol en su rol bioactivo se basan principalmente en su capacidad para actuar como agente neutralizador de radicales libres, protegiendo a las células del daño oxidativo. Esta capacidad se debe a su estructura química, rica en dobles enlaces no conjugados (Y. Ma, 2025), lo cual les confiere una alta reactividad frente a especies reactivas de oxígeno, tales como el anión superóxido y el radical hidroxilo. Su eficacia en este sentido es comparable a la del estándar antioxidante Trolox.

Otro de sus mecanismos relevantes es la modulación de enzimas antioxidantes endógenas, tales como SOD, catalasa y hemo oxigenasa 1 (HO^{-1}), esta última con funciones tanto antioxidantes como antiinflamatorias (X. Yao, 2015) (Figura 15).

Asimismo, el potencial antiinflamatorio del solanesol se encuentra estrechamente vinculado a su capacidad de modular las vías de señalización asociadas al estrés

oxidativo. Uno de los mecanismos propuestos involucra la activación de las proteínas p38 MAPK y Akt, las cuales cumplen un rol central en la regulación de la expresión de la enzima hemo oxigenasa 1 (HO⁻¹). Esta enzima participa en la catabolización de la hemoglobina en biliverdina y monóxido de carbono (CO). La biliverdina es rápidamente transformada en bilirrubina, un metabolito que posee propiedades antioxidantes y antiinflamatorias relevantes en el suero humano. Por ello, la inducción de HO⁻¹ mediada por solanesol podría constituir un enfoque terapéutico prometedor para la intervención del estrés oxidativo asociado a procesos neurodegenerativos (De Gálvez, 2010).

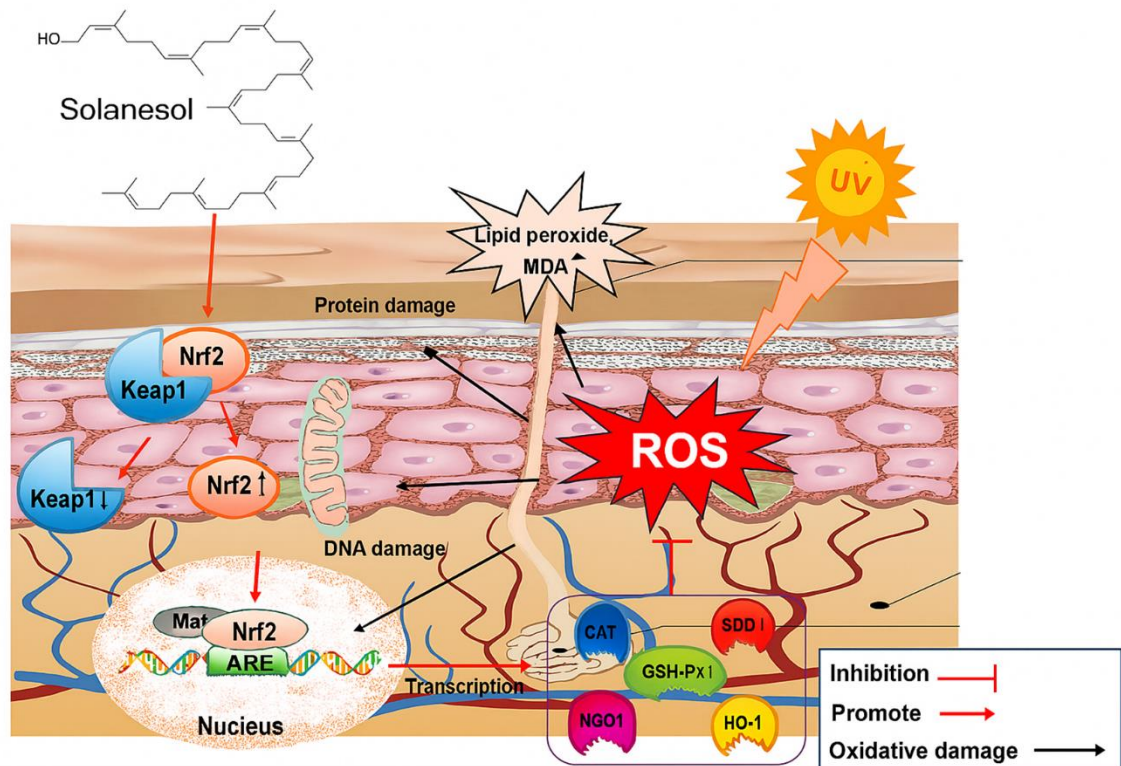


Figura 15: Mecanismo de acción del solanesol. Adaptado de (Yiqiu, 2023)

La evidencia presentada a lo largo de este capítulo pone en relieve el papel central del estrés oxidativo y la inflamación en la fisiopatología de diversas afecciones cutáneas. La búsqueda de alternativas que actúen sobre los mecanismos moleculares implicados ha orientado la atención hacia compuestos bioactivos con capacidad antioxidante y antiinflamatoria, especialmente aquellos

de origen natural. En este contexto, los desechos generados por la industria tabacalera representan una fuente subutilizada pero altamente prometedora de compuestos de interés, entre los cuales destaca el solanesol. Su presencia en los residuos de hojas de tabaco, junto con la posibilidad de recuperar extractos ricos en antioxidantes, ofrece una vía sustentable para el aprovechamiento de subproductos industriales con valor agregado. Bajo esta perspectiva, la presente investigación se enfoca en la obtención y caracterización de extractos antioxidantes a partir de residuos de tabaco industrial, con énfasis en su contenido de solanesol y su potencial aplicación en el tratamiento de afecciones cutáneas asociadas al estrés oxidativo y la inflamación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para alcanzar los objetivos específicos establecidos, se desarrolló la siguiente metodología, en estricto cumplimiento de las normativas vigentes relacionadas con el manejo seguro y responsable de residuos químicos.

3.1. Obtención y estandarización de fracciones de extracto con contenido de solanesol de las hojas de *Nicotiana tabacum L.*

3.1.1. Tratamiento de muestra

La materia prima utilizada consistió en hebras de tabaco tipo Burley, cultivadas en Chile, específicamente en la zona comprendida entre las regiones del Libertador Bernardo O'Higgins y del Bio Bío. Las hojas secas fueron sometidas a un proceso de secado en estufa (Binder, Alemania) a una temperatura constante de 45 °C durante 4 horas (Figura 16).

Posteriormente, se procedió a la molienda del material vegetal seco, seguida de un tamizaje para obtener un tamaño de partícula inferior a 45 µm. Finalmente, el

polvo resultante fue almacenado en un recipiente ámbar, correctamente rotulado y sellado, garantizando su conservación en condiciones óptimas para su posterior procesamiento (Correa, 2019).

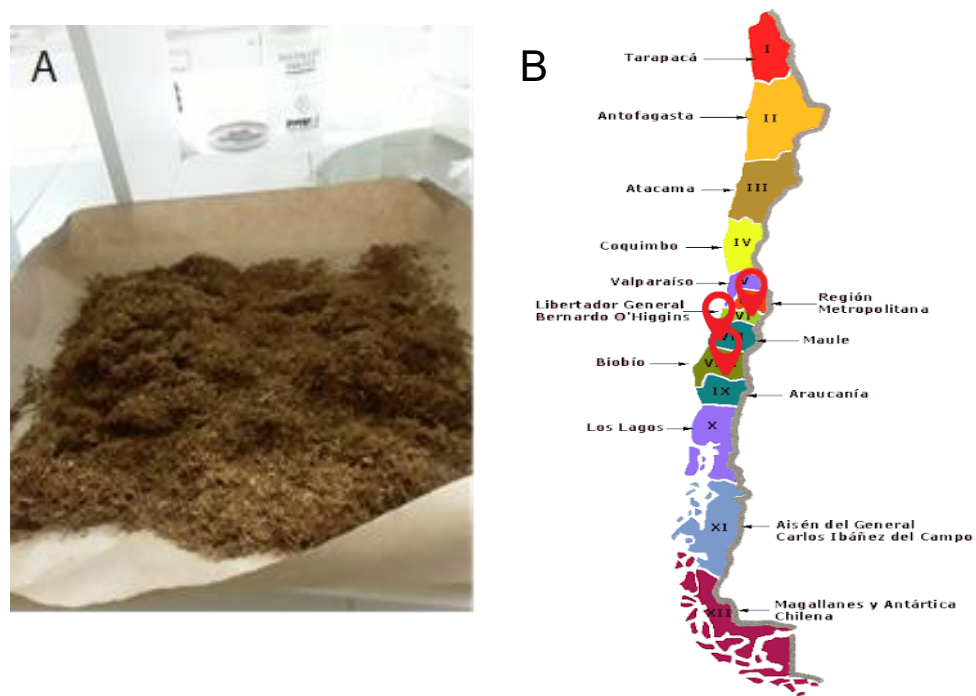


Figura 16: A, Material vegetal seco; B, Mapa que señala el sitio de cosecha del material vegetal correspondiente a la zona centro- sur de Chile. Elaboración propia

3.1.2. Obtención del Extracto

Para la obtención del extracto, se pesaron 50 g de polvo de tabaco previamente seco y tamizado, los cuales fueron sometidos a extracción asistida por ultrasonido (Elma, Alemania) durante 30 minutos a una temperatura de 30 °C, empleando como disolvente 500 mL de etanol. Una vez finalizado el proceso, la mezcla fue filtrada mediante papel de filtro con el fin de separar la fase sólida del extracto líquido. Posteriormente, el filtrado fue concentrado hasta sequedad mediante evaporación rotatoria a 60 °C. El extracto crudo obtenido fue lavado dos veces, primero con 25 mL de agua acidificada al 1% y luego con 10 mL de n-hexano, tras lo cual fue nuevamente secado. Finalmente, el residuo seco fue reconstituido en una mezcla de n-hexano: acetato de etilo en proporción 4:1 (v/v), con el objetivo de preparar la muestra para su posterior fraccionamiento cromatográfico (Rizki, 2024).

3.1.3. Fraccionamiento del extracto

El extracto crudo, fue sometido a un proceso de fraccionamiento mediante cromatografía en columna clásica. Para ello, se empleó una columna de vidrio de 16,5 cm de largo y 2,0 cm de diámetro interno, la cual fue empacada con gel de sílice (diámetro de poro 70–230) como fase estacionaria, utilizando una proporción columna/muestra (D/L) de 1:8. Previamente, se colocó un tapón de algodón en el fondo de la columna para facilitar el flujo uniforme del eluyente.

El gel de sílice fue suspendido en la misma mezcla de n-hexano: acetato de etilo (4:1) empleada para la reconstitución de la muestra. A continuación, se cargó la muestra en la parte superior de la columna y se inició el proceso de elución. Las fracciones eluídas se recolectaron en viales separados, conteniendo aproximadamente 5 mL cada una. Todas las fracciones obtenidas fueron analizadas por cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el propósito de identificar aquellas que contenían solanesol (Correa, 2019; Rizki, 2024).

El diagrama de flujo presentado en la Figura 17 resume el procedimiento seguido para la extracción y fraccionamiento del solanesol a partir de hojas de *Nicotiana tabacum* L.

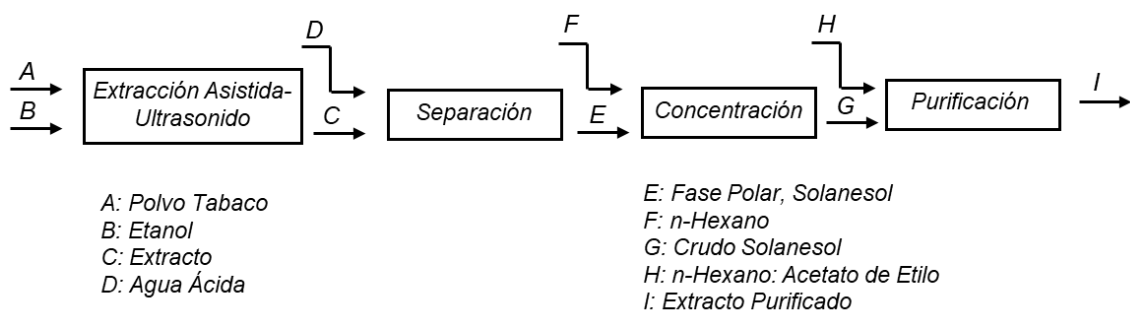


Figura 17: Proceso de extracción del solanesol. Elaboración propia

3.1.4. Análisis cualitativo y cuantitativo del extracto

La metodología empleada para el análisis del solanesol se desarrolló con base en protocolos previamente reportados, con algunas modificaciones adaptadas al presente estudio. Para la identificación cualitativa de las fracciones que contenían

solanesol, se utilizó TLC, empleando placas de gel de sílice (20 × 20 mm, Sigma-Aldrich). La fase móvil utilizada fue n-hexano: acetato de etilo (4:1 v/v), y las placas fueron reveladas mediante derivatización con vainillina para facilitar la visualización de los compuestos presentes. Las fracciones que presentaron bandas con el mismo factor de retardo del estándar de solanesol fueron recolectadas y combinadas para su posterior análisis cuantitativo.

Para la confirmación estructural de los compuestos presentes, las muestras fueron analizadas mediante espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (LC-MS), utilizando un equipo LCMS-8030 de Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kioto, Japón). La ionización se realizó por electrospray (ESI) en modo positivo, con un voltaje de 4 kV y una temperatura de fuente de 350 °C. El volumen de inyección fue de 5 µL, con un flujo de 0,4 mL/min en modo isocrático. La fase móvil consistió en una mezcla de 20% de acetonitrilo (solvente A) y 80% ácido fórmico al 0,1% (solvente B). El rango de masas registrado fue de 50 a 2000 m/z, y la temperatura de la columna se mantuvo constante a 35 °C.

La cuantificación del contenido de solanesol tanto en el extracto crudo como en las fracciones enriquecidas se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC) en un sistema Nexera 40 (Shimadzu Corporation, Kioto, Japón), equipado con un detector de arreglo de diodos (DAD). Se utilizó

una columna Kinetex® Phenyl-Hexyl (1,7 μm , 100 Å, Phenomenex), operando en condiciones isocráticas con una fase móvil compuesta por acetonitrilo (80% v/v) y agua (20% v/v). La temperatura de la columna fue de 50 °C, con un caudal de 0,5 mL/min y un volumen de inyección de 5 μL . Todas las muestras fueron previamente filtradas mediante filtros de jeringa de 0,45 μm antes de su inyección en el sistema cromatográfico.

El análisis cuantitativo se basó en una curva de calibración construida con cinco soluciones estándar de solanesol (Cayman Chemical Company, $\geq 90\%$ de pureza, CAS: 591079-11), en un rango de concentración de 10 a 100 $\mu\text{g/mL}$. La regresión lineal obtenida mostró una excelente correlación ($y = 13,919x + 5143,9$; $R^2 = 0,9997$), confirmando la linealidad del método en el rango evaluado. Cada análisis cuantitativo fue realizado por duplicado, y los resultados se expresan como el promedio de dos experimentos independientes \pm desviación estándar ($N = 2$). La Figura 18 muestra la curva de calibración correspondiente.

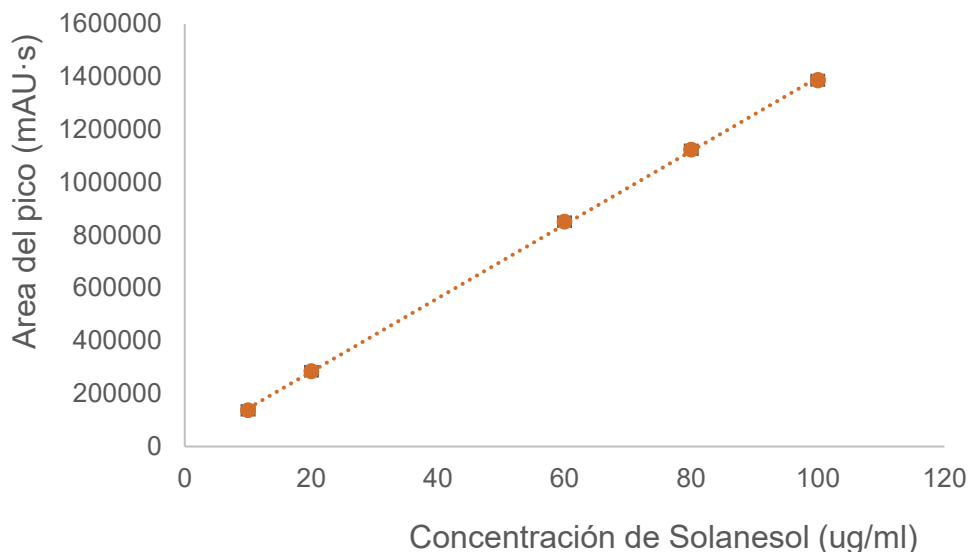


Figura 18: Curva de Calibración de la solución Estándar.

El rendimiento del extracto se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento del extracto (\%)} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso seco del tabaco}} * 100 \quad (1)$$

La concentración de solanesol obtenida mediante análisis HPLC se puede convertir en unidades % p/p para determinar el peso seco de solanesol en tabaco:

$$\text{Rendimiento de solanesol (\%)} = \frac{\text{Peso de solanesol}}{\text{Peso seco del tabaco}} * 100 \quad (2)$$

El peso de solanesol se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Peso de solanesol} = \text{Concentracion de solanesol} * \text{Volumen de extracto} \quad (3)$$

La pureza del metabolito en el extracto se determinó calculando la relación entre el área del pico correspondiente al metabolito de interés y el área total de todos los picos en el cromatograma, la fórmula utilizada fue:

$$\% \text{ de Pureza} = \frac{\text{Área del pico de metabolito}}{\text{Área total de todos los picos}} * 100 \quad (4)$$

3.2. Evaluación *in vitro* de la capacidad antioxidante de las fracciones de extracto obtenido

La actividad antioxidante *in vitro* puede ser evidenciada mediante diferentes ensayos establecidos.

3.2.1. Índice de Folin- Ciocalteu. Determinación de Grupos Reductores

Procedimiento

Se construyó una curva de calibración utilizando ácido gálico a concentraciones de 2; 4; 6; 8 y 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para ello, se tomaron volúmenes de 2, 4, 6, 8 y 10 mL a partir de una solución madre de ácido gálico con concentración de 10 mg/mL en etanol. Las absorbancias fueron medidas a una longitud de onda de 765 nm (Figura 19). El análisis de regresión lineal evidenció una correlación directa dentro del rango de concentraciones evaluado, con un alto coeficiente de determinación ($y = 0,0602x + 0,2242$; $R^2 = 0,9870$). Cada determinación cuantitativa se realizó al menos en duplicado, y los resultados se expresan como promedio \pm desviación estándar de dos experimentos independientes (N = 2).

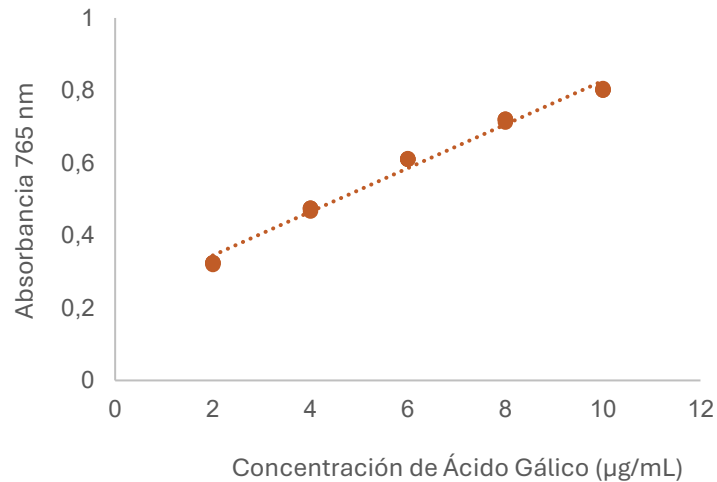


Figura 19: Curva de calibración del ácido gálico. Elaboración propia

Para el análisis, se preparó una solución mezclando en un tubo 0,1 mL de la muestra en etanol, 5 mL de agua destilada, 0,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de carbonato de sodio al 20%, añadiendo agua destilada hasta completar un volumen final de 10 mL. La mezcla se agitó suavemente y se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la absorbancia se midió a 760 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Spectroquant Pharo, Merck). Los resultados de fenoles totales se expresaron como mg equivalentes

de ácido gálico por gramo de extracto seco y mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de hoja fresca (Dewanto, 2002).

3.2.2. Decoloración del radical DPPH⁺. Determinación de la actividad antioxidante

Procedimiento

Se preparó una solución del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH⁺) a una concentración de 0,15 mM en metanol grado analítico. La solución se protegió con papel aluminio para evitar su rápida degradación por la luz.

Para el ensayo, se tomaron 20 µL del extracto o de sus fracciones disueltos en etanol y se mezclaron con 180 µL de la solución de DPPH. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y, posteriormente, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro UV-Visible (Spectroquant Pharo, Merck) (Joyeux, 1995).

Se empleo como estándar de referencia Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) es un análogo hidrosoluble de la vitamina E,

ampliamente utilizado en la evaluación de la capacidad antioxidante. Para su preparación, se preparó una solución madre con concentración de 1,25 mg/mL. A partir de esta, se elaboró una curva de calibración con concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 μM . El procedimiento de medición fue el mismo que para las muestras. El análisis de regresión lineal mostró una relación lineal en este rango, con un alto coeficiente de correlación ($y = 0,0009x + 0,0005$; $R^2 = 0,992$) (Figura 20). Cada experimento se realizó al menos en duplicado y los resultados se presentan como promedio \pm desviación estándar (N = 2)

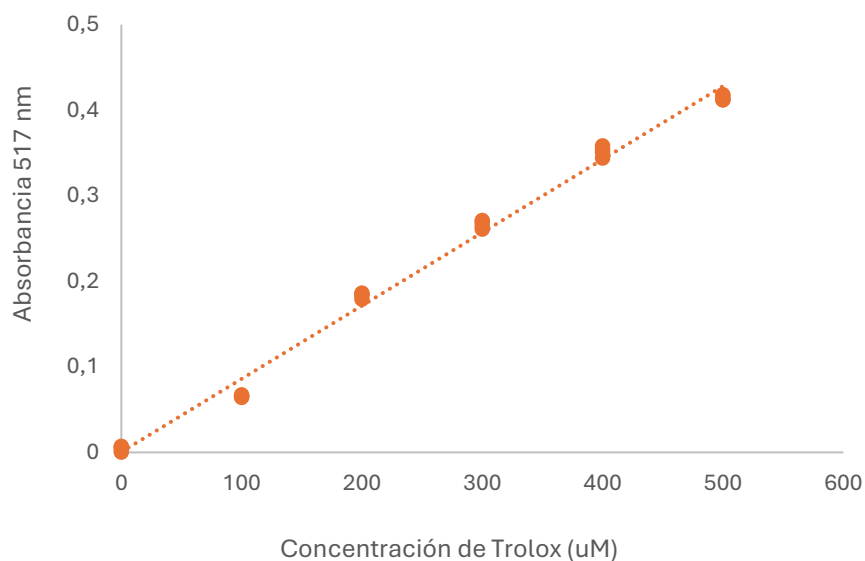


Figura 20: Curva de calibración de Trolox. Elaboración propia

A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante con la ecuación que se presenta a continuación:

$$\% \text{ Capacidad antioxidante} = 1 - \frac{\text{Abs. muestra con DPPH} - \text{Abs. Blanco}}{\text{Abs. DPPH}} * 100 \quad (5)$$

3.2.2.1. Decoloración del radical DPPH+. Determinación del IC 50

Además, se realizó un ensayo para determinar la concentración media inhibitoria (IC₅₀) del extracto. Para ello, se preparó una solución de DPPH⁺ a una concentración de 0,1 mM en metanol grado analítico, la cual se mantuvo protegida de la luz cubriéndola con papel aluminio para evitar su degradación.

Se tomaron 20 µL del extracto a diferentes concentraciones (0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50; 1,75 y 2,00 µg/mL) disuelto en metanol, y se mezclaron con 180 µL de la solución de DPPH. Las mezclas se dejaron reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente, tras lo cual se midió la absorbancia a 517 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Spectroquant Pharo, Merck). Como control

negativo se utilizó DPPH sin extracto (Alawode, 2018). El porcentaje de inhibición de DPPH se determinó de la siguiente forma:

$$\% \text{ de Inhibición de DPPH} = \frac{\text{Abs. Control (-)} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. del Control(-)}} * 100 \quad (6)$$

Los datos de inhibición se ajustaron a un modelo lineal de la forma ($y = -40,45x + 94,51$; $R^2 = 0,9936$). A partir de esta ecuación, se calculó el valor de IC_{50} , definido como la concentración necesaria para alcanzar un 50% de inhibición del radical DPPH.

3.2.2.2. Decoloración del radical DPPH+. Determinación de la cinética en función del tiempo

Por otra parte, se evaluó la actividad antioxidante en función del tiempo mediante un ensayo cinético utilizando el radical libre DPPH⁺. Para ello, se mezclaron 20 μL del extracto y de cada una de las fracciones con 180 μL de la solución de DPPH (0,15 mM en metanol), y se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente. La absorbancia se registró cada 10 minutos a una longitud de onda de 517 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Spectroquant Pharo, Merck).

Como control negativo se utilizó una solución de DPPH sin muestra. El diseño experimental se muestra en la Figura 21.

Este ensayo permitió analizar la cinética de reducción del radical DPPH por parte de los compuestos presentes en el extracto y sus fracciones, evaluando la velocidad y la eficiencia del proceso antioxidante a lo largo del tiempo.

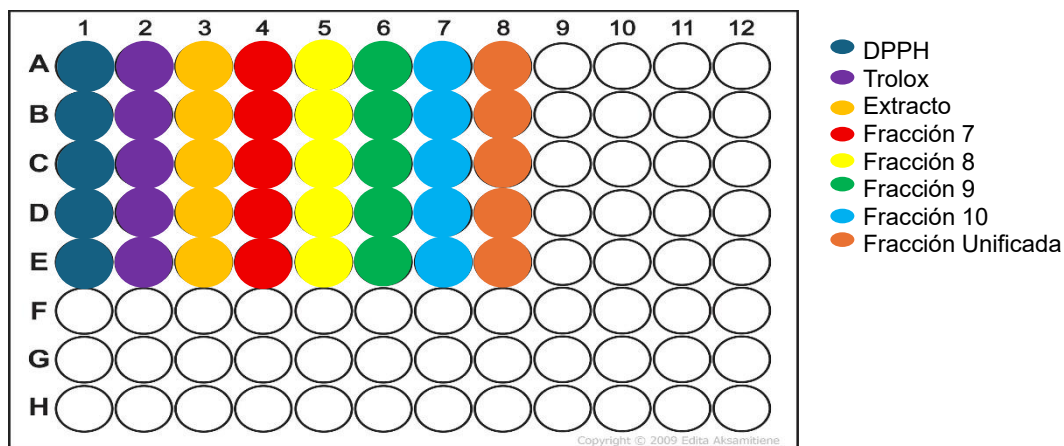


Figura 21: Diseño del ensayo de cinética del DPPH en función del tiempo. Elaboración propia

3.2.3. Efecto Quelante sobre Metales de Transición

Procedimiento

Para evaluar el efecto quelante del extracto y sus fracciones sobre iones metálicos, se analizaron los cambios espectrales en la región ultravioleta (200–400 nm) mediante espectrofotometría UV-Visible (Spectroquant Pharo Merck). Las muestras fueron incubadas durante 15 minutos a temperatura ambiente en una solución tampón Tris (5 mM, pH 7,0) en presencia de sulfato ferroso (FeSO_4) a una concentración final de 100 mM. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (100 mM) se utilizó como control positivo por su reconocida capacidad quelante, mientras que el agua destilada fue empleada como control negativo (Okada, 1998). El efecto quelante se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Efecto Quelante} = \frac{\text{Absorbancia control} - \text{Absorbancia problema}}{\text{Absorbancia control}} * 100 \quad (7)$$

3.2.4. Estabilización del Radical Hidroxilo (OH)

Procedimiento

Para este método se evaluó la capacidad de los extractos y sus fracciones para atrapar el radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). La generación del radical se basó en la reacción de Fenton, siguiendo la metodología descrita por (Halliwell, 1987).

La mezcla de reacción se preparó combinando 50 μL de Fe^{3+} (20 mM), 50 μL de H_2O_2 (42 mM) y 10 μL de ácido ascórbico (50 mM) como reductor. A esta mezcla se le añadieron 10 μL del extracto o de cada fracción evaluada, junto con 100 μL de desoxirribosa (2,8 mM). La solución se incubó a 37 °C durante 60 minutos para permitir la reacción de oxidación de la desoxirribosa por los radicales hidroxilos generados.

Finalizada la incubación, se agregaron 1 mL de ácido tricloroacético (TCA, 2,8%) y 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA, 1%) a cada tubo. Las muestras fueron posteriormente calentadas a 100 °C durante 15 minutos en baño maría. Tras enfriar a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 532 nm mediante

espectrofotometría UV-Visible (Spectroquant Pharo Merck). Las determinaciones se realizaron por triplicado. El porcentaje de inhibición del radical hidroxilo fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia control} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia control}} * 100 \quad (8)$$

3.3. Determinación del efecto protector contra el estrés oxidativo del extracto obtenido en líneas celulares

La actividad antioxidante *in vitro* será evidenciada mediante un ensayo de proliferación celular en líneas celulares EA.hy926

3.3.1. Descripción de línea celular y cultivo

La línea celular EA.hy926 es una línea endotelial humana obtenida en 1983 por Edgell C.J., a partir de la fusión de células endoteliales primarias derivadas de vena umbilical humana (HUVEC) con la línea celular A549 (carcinoma pulmonar

humano) (Edgell, 1983). Esta línea híbrida conserva muchas de las características funcionales del endotelio vascular humano, por lo que es ampliamente utilizada en estudios relacionados con la fisiología y la respuesta del endotelio frente a distintos estímulos (Edgell, 1983).

Para los ensayos experimentales, las células EA.hy926 fueron sembradas y desarrolladas hasta alcanzar la cantidad suficiente necesaria para su mantenimiento y para la realización de los ensayos *in vitro*. El cultivo celular se llevó a cabo en frascos específicos para cultivo celular, en condiciones estándar de atmósfera húmeda, a 37 °C, con una concentración de CO₂ al 5%, en incubadora controlada.

3.3.2. Ensayo de citotoxicidad celular en células endoteliales

Procedimiento

Para el desarrollo del ensayo de viabilidad celular mediante MTT, se sembraron aproximadamente 10 000 células EA.hy926 por pocillo en placas de cultivo de 96

pozos, incubándolas durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂. Posteriormente, se incubaron en cuatuplicado con diferentes concentraciones del extracto de tabaco y la fracción unificada con presencia de solanesol (10; 1; 0,1; 0,01 mg/mL) durante 24 horas adicionales.

Transcurrido este tiempo, se retiró el medio de cultivo y los pocillos fueron lavados dos veces con 100 µL de solución salina tamponada con fosfato (PBS). Luego, se añadió medio de cultivo libre de fenol rojo y 10 µL de solución de MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio bromuro; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) a cada pocillo, incubándose por 3 horas a 37 °C. Finalizada la incubación, se adicionó 1 µg/mL de DMSO para solubilizar los cristales de formazán, manteniéndose a 37 °C durante 10 minutos.

Finalmente, se midió la absorbancia a 570 nm en un lector de microplacas Biotek Synergy 2 SL (Merck, 2024). Los resultados obtenidos permitieron evaluar la viabilidad celular en función de la concentración de los tratamientos aplicados (Figura 22).

El porcentaje de viabilidad se obtuvo como lo muestra la Ecuación:

$$\% \text{ Viabilidad } (Vb) = \frac{\text{Absorbancia células tratadas}}{\text{Absorbancia células control}} * 100 \quad (9)$$

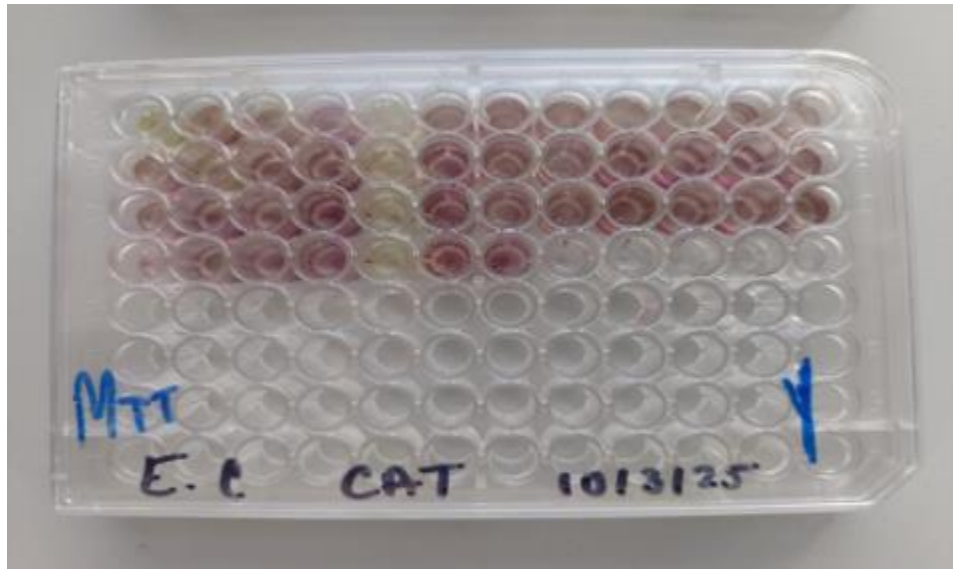


Figura 22: Ensayo de viabilidad, con muestras en cuadruplicado en células EA.hy926 y en una placa de 96 pocillos. Elaboración propia

3.3.3. Detección de especies reactivas de oxígeno total

Procedimiento

Para el desarrollo de este procedimiento, se sembraron aproximadamente 10 000 células EA.hy926 por pocillo en placas de cultivo celular de 96 pocillos,

incubándolas durante 24 horas a 37 °C y 5% de CO₂ para favorecer su adherencia. Posteriormente, las células fueron tratadas en triplicado con extracto de tabaco y con la fracción unificada rica en solanesol, a concentraciones de 10, 1, 0,1 y 0,01 mg/mL, durante 24 horas. Finalizada la incubación, se retiró el medio de cultivo y los pocillos se lavaron dos veces con 100 µL de solución salina tamponada con fosfato (PBS). A continuación, se adicionaron 5 µL de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 2% en PBS, y se incubaron nuevamente a 37 °C durante 30 minutos, con el fin de inducir estrés oxidativo.

La generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) fue detectada mediante la sonda diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA, Molecular Probes) a una concentración de 0,5 µM, incubando durante 30 minutos a 37 °C en oscuridad. La fluorescencia generada por la oxidación intracelular del DCFH a DCF fue medida en un lector de microplacas Synergy 2 (BioTek Instruments) con excitación a 485 nm y emisión a 520 nm. La intensidad de fluorescencia es proporcional a la cantidad de ROS generadas (Ortega, 2017).

3.4. Formulación de un gel a base de solanesol

Con el objetivo de desarrollar una formulación tópica, se elaboró un gel hidroalcohólico empleando Carbopol® 934 como agente gelificante. La preparación se realizó cumpliendo con las normas de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) (NF, 2007).

Para la formulación del gel, se seleccionaron cuidadosamente los excipientes descritos en la Tabla 2, considerando su compatibilidad con el extracto, su impacto ambiental y su adecuada funcionalidad tecnológica. La incorporación del extracto estandarizado se realizó al final del proceso, una vez obtenida la base gelificada y neutralizada.

El producto final fue envasado en recipientes plásticos y almacenado en condiciones controladas de temperatura y humedad (lugar fresco y seco), hasta su evaluación físico-química y funcional (Sridevi, 2017).

Ingredientes	Cantidades (% w/w)
Fitocomplejo	1
Carbopol-934	1
Trietanolamina	CS
Metil Parabeno	0,5
Propil Parabeno	0,2

Tabla 2: Formulación del gel de Solanesol. Elaboración Propia

3.4.1. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del gel de solanesol

El gel formulado fue evaluado para distintos parámetros fisicoquímicos como color, pH, homogeneidad, viscosidad (Sridevi, 2017) y contenido de drogas (Basha, 2011).

- **Medición del pH**

Se pesaron 5 g de gel, los cuales se dispersaron en 50 mL de agua destilada. El pH de la suspensión resultante se determinó utilizando un medidor de pH digital

(EDGE multiparamétrico, Hanna). El experimento se realizó por triplicado y se reportó el promedio de las mediciones.

- **Homogeneidad**

La homogeneidad del gel se evaluó mediante observación visual, verificando la apariencia general y la presencia o ausencia de partículas o sustancias extrañas.

- **Viscosidad**

La viscosidad fue medida con un viscosímetro digital Brookfield Modelo DV-E, con set de spindles RV a velocidad constante y temperatura controlada. Para ello, se pesaron 50 g de gel, que fueron colocados en un vaso de precipitados de 100 mL. Los resultados se expresaron en centipoise (cP).

- **Contenido de drogas en la formulación**

Se construyó una curva de calibración utilizando con cinco soluciones estándar de solanesol (Cayman Chemical Company, $\geq 90\%$ de pureza, CAS: 591079-11), en un rango de concentración de 0,5 y 1,75 mg/mL. La regresión lineal obtenida mostró una excelente correlación ($y = 1,1411x - 0,2197$; $R^2 = 0,996$), (Figura 23) confirmando la linealidad del método en el rango evaluado. Cada análisis fue

realizado por duplicado, y los resultados se expresan como el promedio de dos experimentos independientes \pm desviación estándar (N = 2).

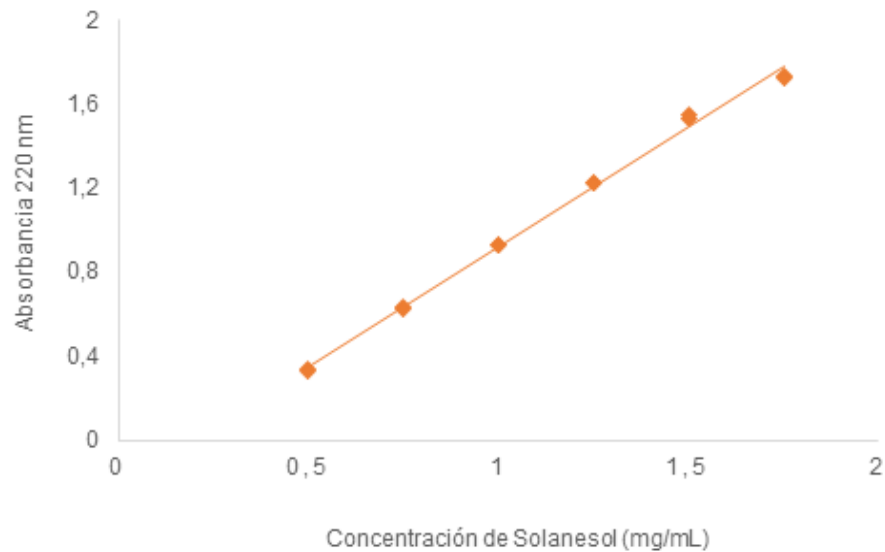


Figura 23: Curva de Calibración de la solución Estándar. Elaboración propia

El contenido de solanesol en el gel formulado se determinó disolviendo con precisión 1 g de gel en 10 mL de etanol. Posteriormente, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 220 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Spectroquant® Pharo, Merck). El contenido de solanesol se expresó como porcentaje en peso (% p/p) en relación con el peso total del gel.

3.5. Análisis Estadístico

Para el diseño de los experimentos y el análisis de los resultados mediante ANOVA de un solo factor, se empleó el programa estadístico GraphPad Prism 8.4.2. En el caso de los estudios *in vitro* en celdas de Franz, se compararán los resultados de las diferentes formulaciones para seleccionar la que presente los mejores resultados.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan los resultados obtenidos a partir del análisis de los datos recolectados durante la investigación. Para facilitar su comprensión, el contenido se organiza según las variables clave del estudio, permitiendo una interpretación clara, estructurada y coherente de la información.

4.1. Obtención de un extracto y sus fracciones con contenido de solanesol de las hojas de *Nicotiana tabacum L.*

En este estudio se logró obtener un extracto enriquecido en solanesol a partir de hojas de *Nicotiana tabacum L.* mediante un proceso de extracción que combinó el uso de disolventes orgánicos y condiciones controladas de temperatura. Se empleó la extracción asistida por ultrasonido como método principal para la obtención de metabolitos secundarios, técnica que, en comparación con otros métodos reportados en la literatura como Soxhlet, microondas, reflujo y extracción en fase sólida (Hu, 2015), presenta diversas ventajas en términos de eficiencia y reducción del consumo de recursos.

Los resultados obtenidos evidencian que la extracción por ultrasonido permite obtener extractos de alta calidad en un tiempo significativamente menor, lo cual respalda su eficacia como alternativa frente a métodos convencionales. Este proceso se caracterizó por ser rápido y sencillo, generando un ahorro considerable tanto en reactivos como en energía.

En comparación con el método Soxhlet, ampliamente utilizado en la extracción de metabolitos vegetales, la técnica asistida por ultrasonido (UAE) demostró claras ventajas en términos de eficiencia operativa y sostenibilidad (Chemat, 2017), según se puede apreciar en la tabla 3.

Características	Soxhlet	UAE
Tiempo de extracción	4 – 8 horas	15 – 60 minutos
Volumen de solvente por 10 g de muestra	150 – 300 mL	20 – 50 mL
Tipo de solvente	Hexano, etanol, metanol u otros orgánicos	Hexano, etanol, metanol u otros orgánicos
Rendimiento de extracción	1% – 3%	2% – 5%
Eficiencia	Menor	Mayor
Consumo de energía	Alto	Bajo

Tabla 3: Comparación de la eficiencia de extracción de metabolitos secundarios mediante Soxhlet y UAE. Tomado de (L. Wang, & Weller, CL, 2006)

La Figura 24 presenta el extracto obtenido tras el proceso de extracción y posterior purificación mediante columna clásica. Los resultados indican que el extracto generado mediante ultrasonido contiene una concentración adecuada de los metabolitos de interés, confirmando la efectividad de esta técnica. Además, la purificación cromatográfica permitió una separación eficiente de los compuestos, mejorando la calidad del extracto final. Este paso de purificación es fundamental para evitar interferencias en los análisis posteriores y en el desarrollo de productos derivados.

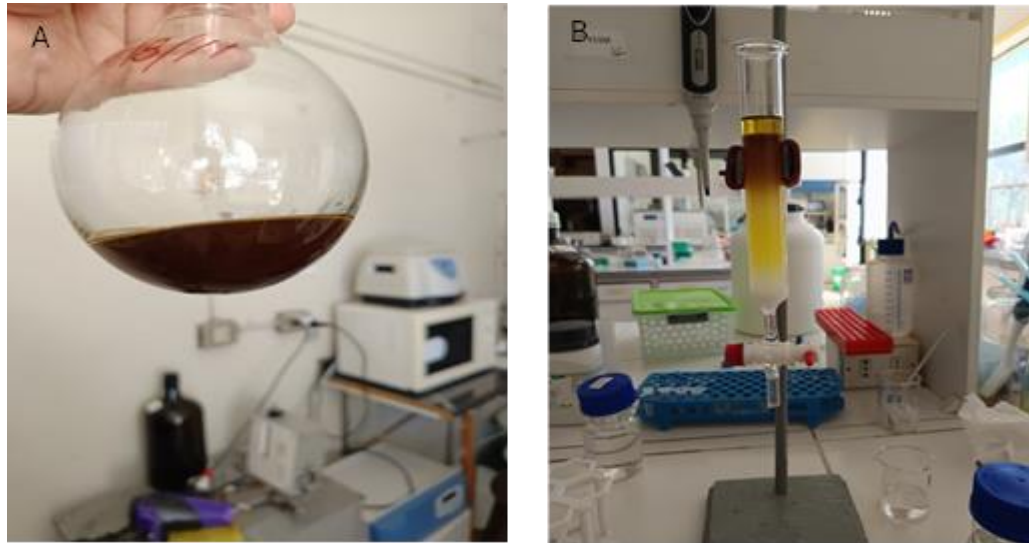


Figura 24: A, Extracto obtenido en el proceso de ultrasonido; B, Extracto después de ser sometidos a purificación y fraccionamiento en columna clásica.

Un estudio reciente realizado por Banožić (2019) evaluó la extracción asistida por ultrasonido de solanesol y compuestos fenólicos a partir de diversos residuos de la industria tabacalera (restos, polvo y nervadura central), comparándolos también con hojas de tabaco enteras. Se observaron rangos notables en la concentración de compuestos fenólicos: ácido clorogénico (3,64- 804,2 $\mu\text{g/mL}$), ácido caféico (2,34- 10,8 $\mu\text{g/mL}$), y rutina (11,56- 93,7 $\mu\text{g/mL}$); por su parte, el contenido de solanesol osciló entre 294,9 y 598,9 $\mu\text{g/mL}$ para hojas y residuos.

Además, concentraciones específicas de solanesol en los extractos de residuos variaron entre 5,03 y 18,28 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando diferencias dependientes del tipo de residuo (concentraciones más altas en restos y polvo que en nervadura central) y de las condiciones óptimas de UAE (tiempos entre ~9 y 51 min, temperaturas entre ~34 y 76 °C, inclusión de NaOH 0,05 M) (Atla, 2014). Estas variaciones se reflejaron directamente en la actividad antioxidante de los extractos, para las muestras de residuos variaron entre 0,71% y 37,24%, mientras que para los extractos de hojas oscilaron entre 13,94% y 95,02% lo que confirma que tanto el tipo de residuo como los parámetros de ultrasonido tienen un impacto significativo en el rendimiento y la calidad del extracto (Banožić, 2019).

En relación con los solventes empleados para la obtención de extractos, se han utilizado diversas sustancias como agua, hexano, etanol, diclorometano, n-butanol, acetato de etilo, metanol y éter de petróleo. Considerando la creciente necesidad de aplicar métodos de extracción sostenibles y respetuosos con el medio ambiente, así como la baja toxicidad del etanol en comparación con otros solventes (exceptuando el agua), se optó por utilizar etanol debido a su capacidad para extraer metabolitos de interés, especialmente aquellos con características polares.

Además, se aplicó un proceso de molienda para reducir el tamaño de partícula del material vegetal, incrementando así el área de contacto entre el sustrato vegetal y el solvente, lo que favorece la eficiencia de la extracción (Dueñas, 2017).

En conjunto, los resultados presentados en este acápite evidencian la efectividad de la extracción asistida por ultrasonido como una estrategia eficiente, rápida y sostenible para la obtención de solanesol y otros metabolitos bioactivos a partir de hojas de *Nicotiana tabacum* L. y residuos derivados de su procesamiento industrial.

4.2. Estandarización de un extracto y sus fracciones con contenido de solanesol de las hojas de *Nicotiana tabacum* L.

La estandarización de un extracto es un proceso mediante el cual se asegura que un extracto vegetal (o de cualquier origen natural) tenga una composición química constante, reproducible y cuantificable en términos de uno o más compuestos bioactivos específicos.

4.2.1. Identificación de marcadores químicos activos en el extracto y sus fracciones con contenido de solanesol

Una de las técnicas utilizadas para la identificación preliminar de compuestos en mezclas complejas es la TLC, la cual resulta especialmente útil en estudios fitoquímicos. Esta técnica fue empleada con el propósito de evaluar la pureza de las fracciones obtenidas a partir de *Nicotiana tabacum* L. y detectar la presencia de solanesol tanto en el extracto crudo como en las fracciones purificadas.

Una de las principales ventajas de la TLC es que requiere volúmenes reducidos de muestra y de solvente, lo que la convierte en una herramienta eficiente y económica para el análisis cualitativo de compuestos. En la Figura 25 se presentan los resultados obtenidos mediante TLC, donde se compararon las bandas del extracto bruto y las fracciones purificadas. Las muestras fueron aplicadas sobre placas recubiertas con gel de sílice y desarrolladas en una cámara de elución utilizando una mezcla de solventes antes mencionada en la metodología de polaridad diversa, con el fin de optimizar la separación de los componentes presentes.

El análisis cualitativo de los extractos evidenció la presencia de solanesol mediante la comparación con patrones de referencia, observándose un perfil

cromatográfico característico que coincidió con el de los estándares comerciales. Los resultados permitieron identificar que las fracciones colectadas entre la número 6 y la 14 contenían predominantemente solanesol debido a que presentaron un Rf (0,29) igual que el estándar de solanesol, indicando que dichas fracciones eran particularmente ricas en este metabolito. Esta observación se corroboró por la similitud entre la banda del estándar y las bandas observadas en dichas fracciones.

No obstante, en las fracciones 6, 13 y 14 se visualizó una menor intensidad de la mancha correspondiente al solanesol en comparación con las fracciones 7 a 12, las cuales presentaron mayor concentración del compuesto. Asimismo, se detectaron otras sustancias de menor intensidad, las cuales no interfirieron significativamente en la posterior cuantificación del solanesol, aunque reflejan la complejidad química del extracto obtenido.

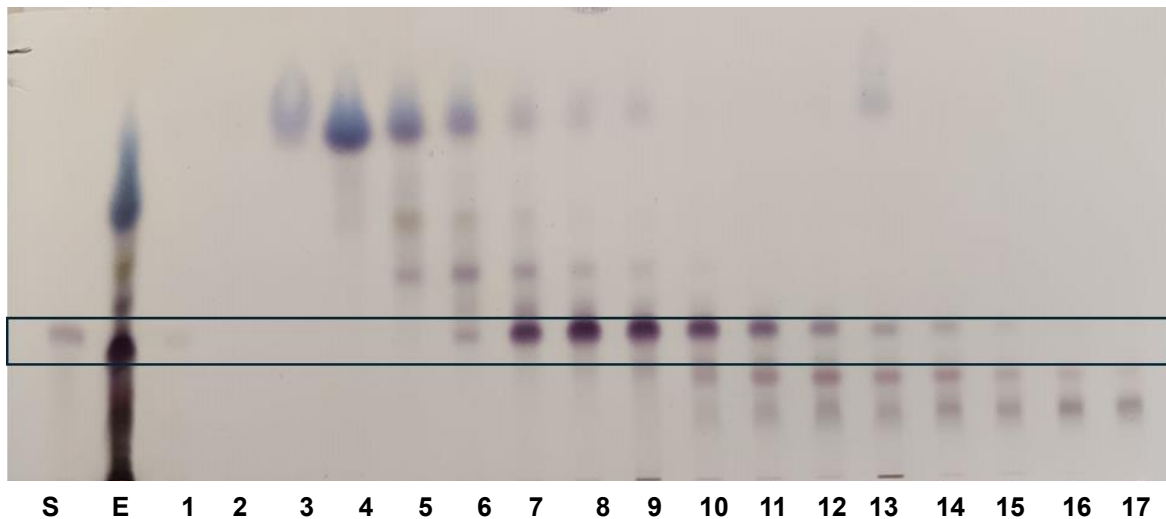


Figura 25: Cromatografía de placa delgada, (S) estándar de solanesol, (E) extracto bruto, (1-17) fracciones de los extractos obtenidos de la columna cromatográfica.

Elaboración propia

Cabe destacar que, si bien la TLC constituye una herramienta eficaz para la identificación cualitativa preliminar, no permite determinar el grado de pureza del compuesto ni proporciona información cuantitativa. Por esta razón, se recurrió al empleo de técnicas analíticas más específicas y sensibles, como la espectrometría de masas (MS) y la cromatografía líquida de alta resolución

(HPLC), con el fin de confirmar la identidad del solanesol y cuantificar su concentración en las fracciones seleccionadas.

La espectrometría de masas se ha consolidado como una herramienta indispensable para el análisis cualitativo de metabolitos secundarios provenientes de matrices vegetales complejas (Blaženović, 2018).

En el espectro de masas de alta resolución obtenido en modo de ionización positiva (MS ESI+), presentado en la Figura 26, se observaron tres picos principales con relaciones masa/carga (m/z) de 669,5; 653,6 y 613,6. Estos fragmentos corresponden a los iones más estables generados por la molécula de solanesol.

Uno de los fragmentos más abundantes corresponde al aducto con potasio ($m/z = 669,5$), lo cual es consistente con la capacidad del grupo hidroxilo ($-OH$) presente en el solanesol para coordinarse con el catión K^+ mediante interacciones ion-dipolo. La naturaleza apolar de la molécula favorece esta interacción al no competir significativamente por la solvatación del catión. Al contrastar los valores de m/z obtenidos con el peso molecular teórico del solanesol ($PM = 647,1$ g/mol), se identificó el ión molecular $[M+H]^+$ con $m/z = 648,6$, confirmando la presencia del compuesto en la muestra. El valor observado

para el aducto con potasio ($m/z = 669,5$) concuerda con la suma del ión molecular más la masa del catión potasio (K^+), lo que refuerza la identidad del analito como solanesol (W. Huang, 2008).

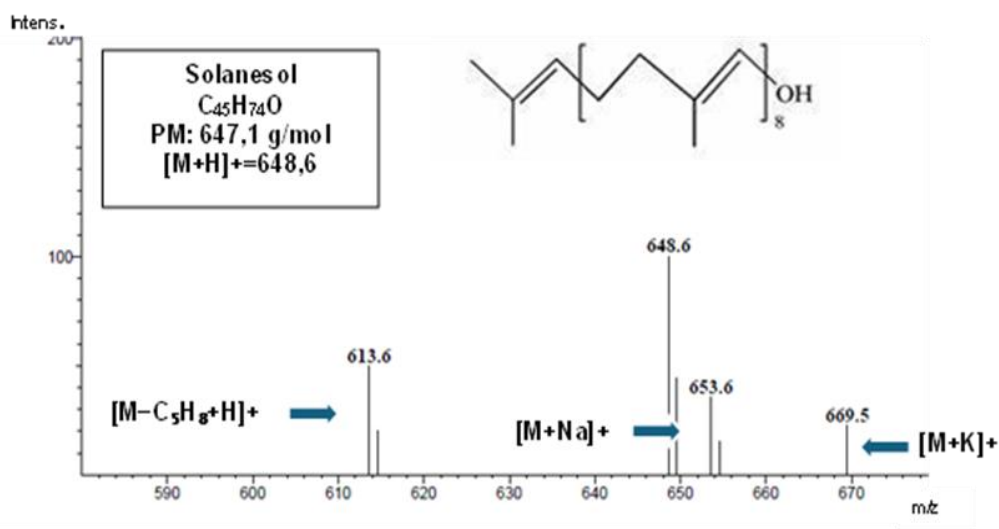


Figura 26: Espectro de masa y estructura química del compuesto principal.

Elaboración propia

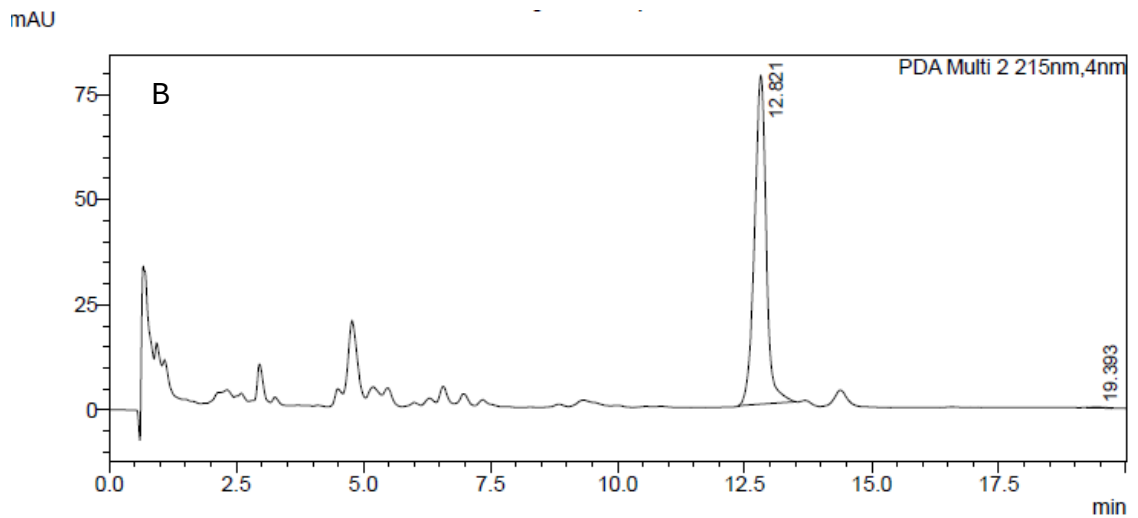
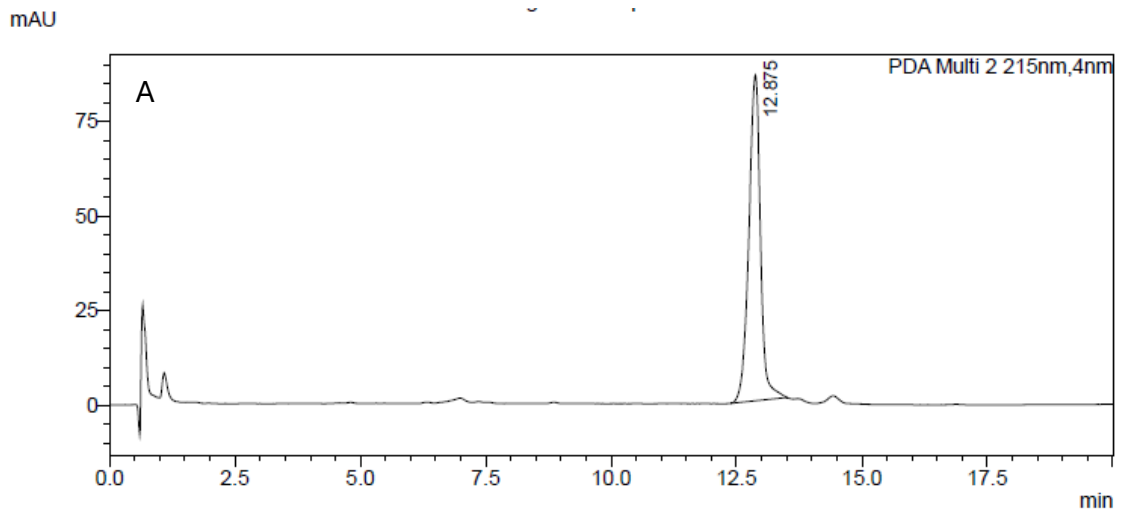
El pico con $m/z = 613,6$ observado en el espectro de masas corresponde presumiblemente a un fragmento generado por la ruptura de un enlace carbono-

carbono (C–C) en uno de los extremos de la cadena isoprenoide del solanesol, lo cual sugiere una fragmentación en una unidad terminal. Por su parte, el fragmento con $m/z = 653,6$ es probablemente atribuible al aducto $[M+Na]^+$, fenómeno común en análisis de espectrometría de masas cuando existen trazas de sodio en la muestra o el sistema. La aparición de picos a $m/z = 653,6$ y $669,5$ confirma la tendencia del solanesol a formar complejos iónicos con cationes metálicos, una característica típica de alcoholes con largas cadenas hidrocarbonadas.

Para complementar la identificación cualitativa y llevar a cabo la cuantificación del solanesol, se empleó UHPLC acoplada a un detector de DAD. Este análisis permitió obtener cromatogramas de alta resolución tanto para el extracto como para el estándar comercial de solanesol. A partir del análisis de estos cromatogramas, se identificó el tiempo de retención (tR) del compuesto de interés.

La Figura 27 muestra el cromatograma representativo del solanesol, en el cual se observa una señal principal con un tiempo de retención de 13,091 minutos, bajo las condiciones experimentales establecidas. Este valor coincidió con el registrado para el estándar comercial, lo cual confirma la presencia del metabolito en las fracciones purificadas. Esta coincidencia entre el perfil cromatográfico del

patrón y las muestras analizadas respalda la confiabilidad del procedimiento empleado para la identificación y cuantificación del solanesol.



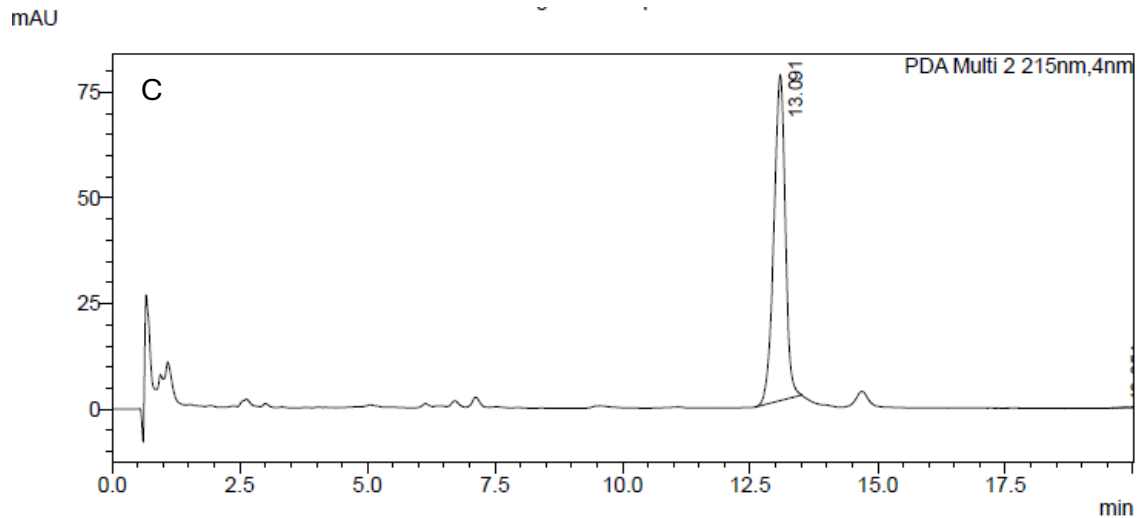


Figura 27: Cromatograma de HPLC-DDA; A, estándar de solanesol; B, extracto crudo de solanesol; C, fracciones de extracto obtenidas (7-12). Elaboración propia

Al comparar el cromatograma obtenido para la muestra con el correspondiente al patrón de solanesol, se observa una coincidencia en los tiempos de retención, lo cual permite confirmar cualitativamente la presencia de solanesol tanto en el extracto como en las fracciones purificadas. Asimismo, se detectaron otros picos menores en el cromatograma, los cuales podrían corresponder a impurezas presentes en la muestra o a otros compuestos secundarios no eliminados completamente durante el proceso de purificación.

En función de los análisis cualitativos realizados, se confirmó la presencia de solanesol en varias de las fracciones obtenidas, destacándose especialmente las fracciones 7 a 10 por su mayor intensidad y pureza. Por este motivo, se seleccionaron dichas fracciones para los ensayos posteriores. Adicionalmente, con el fin de maximizar el aprovechamiento del extracto y obtener una muestra representativa, se reunieron las fracciones 6 a 14 en una muestra compuesta denominada fracción unificada (FU), la cual fue también utilizada en los análisis complementarios del estudio. Dado que las técnicas aplicadas hasta este punto permitieron solamente una identificación, se hizo necesario complementar los resultados mediante análisis cuantitativos que permitieran determinar con precisión la concentración de solanesol en las muestras seleccionadas.

4.2.2. Análisis cuantitativo de un extracto y sus fracciones con contenido de solanesol

La cuantificación del contenido de solanesol en el extracto y sus fracciones se realizó mediante HPLC con detector de DAD. A partir de los cromatogramas obtenidos, se determinaron los tiempos de retención y el área bajo la curva de

los picos correspondientes al solanesol, lo que permitió calcular su concentración y establecer el porcentaje de pureza en las muestras analizadas (Tabla 4).

El rendimiento promedio del extracto fue de 3,2% en peso con respecto a la materia prima utilizada. En cuanto al metabolito de interés, se obtuvo un rendimiento de solanesol del 1,98% a partir del extracto crudo. Posteriormente, este material fue sometido a un proceso de purificación, alcanzando una pureza final del 90-98% para las fracciones analizadas.

Muestras	Área del Pico	Concentración (µg/mL)	FD	Concentración (µg/mL)	Concentración (mg/mL)
F7	1000977,50	71,54	20	1430,89	1,43
F8	1270870,00	90,93	20	1818,70	1,82
F9	1372122,50	98,20	20	1964,19	1,96
F10	618088,00	44,03	20	880,73	0,88
FU	1195512,00	85,52	20	1710,42	1,71
E	1064209,00	76,08	200	15217,54	15,22

F7, 8,9,10: fracciones 7,8,9,10; FU: fracción unificada; E: extracto

Tabla 4: Datos obtenidos de HPLC-DDA. Elaboración propia

El solanesol se encuentra en el tabaco tanto en forma libre (alcohólica) como en forma esterificada, como ésteres de solanesilo (Dunkle, 2016). En el tabaco tipo Burley, el contenido de solanesol libre aumenta después del proceso de curado, lo cual representa una ventaja significativa al utilizar tabaco curado en lugar de tabaco verde para la extracción de este compuesto.

En China, la extracción de solanesol a partir de hojas de tabaco con fines comerciales ha sido ampliamente estudiada, reportándose rendimientos variables que oscilan entre 0,03% m/m y 0,4% m/m con respecto a hojas secas (Torres, 2017). Sin embargo, un estudio reciente realizado por Rizki (2024), en el que se compararon distintos métodos de extracción (microondas, ultrasonido y una extracción secuencial asistida por microondas-ultrasonido), reportó un rendimiento máximo de 3,0%, siendo este valor notablemente superior al de otros estudios. Este alto rendimiento se atribuye al uso de hojas frescas y a la implementación de una metodología de extracción secuencial que combina ambas tecnologías.

Por otra parte, X. Huang (2019) evaluaron la capacidad antioxidante de extractos de tabaco obtenidos mediante extracción con CO₂ supercrítico y por calentamiento a reflujo. Los resultados indicaron que la capacidad captadora de

radicales libres aumenta con la concentración de solanesol, observándose una mayor actividad en los extractos con alrededor de un 3% del compuesto.

En el presente estudio, el extracto purificado de solanesol alcanzó una pureza del 94%. Este valor cumple con los requerimientos para su aplicación directa en el área biomédica o como precursor en la síntesis de compuestos bioactivos como la coenzima Q10 y la vitamina K₂, para los cuales se exige una pureza mínima del 90% (Correa, 2019). Por lo tanto, el protocolo propuesto demostró ser eficaz no solo en términos de rendimiento, sino también en la obtención de un producto altamente purificado.

La cuantificación del solanesol demostró que el protocolo de extracción y fraccionamiento aplicado fue altamente eficiente. Estos resultados no solo superan los rendimientos reportados en estudios previos, sino que también cumplen con los estándares requeridos para aplicaciones biomédicas e industriales, validando así la viabilidad del proceso propuesto para la obtención de solanesol a partir de tabaco, por lo que se hace necesaria la determinación de su capacidad antioxidante, para determinar sus posibles mecanismos de acción.

4.3. Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto obtenido de *Nicotiana tabacum* L., mediante ensayos *in vitro*

Los compuestos bioactivos presentes en extractos vegetales —como hojas, frutos u otras partes— ejercen diversas funciones biológicas que pueden contribuir a la prevención y tratamiento de enfermedades. Estos metabolitos secundarios han mostrado efectos positivos en la reducción del estrés oxidativo, inhibición del desarrollo tumoral, actividad antiinflamatoria y regulación de los niveles de lipoproteínas de baja densidad (Banožić, 2020).

4.3.1. Determinación de Grupos Reductores. Índice de Folin- Ciocalteu

El reactivo de Folin-Ciocalteu reacciona con compuestos que presentan grupos hidroxilo fenólicos. Aunque no es específico para un tipo particular de fenoles, este ensayo permite estimar la concentración total de grupos hidroxilos fenólicos en un extracto vegetal (Morillas, 2012). Los resultados se expresan en microgramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (μg EAG/g), y

pueden servir como marcadores químicos útiles para mecanismos de estabilización de radicales libres por transferencia de electrones.

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos para el contenido de compuestos fenólicos totales. El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0070$), evidenciando que el extracto crudo (E) y la fracción unificada (FU) presentaron valores significativamente mayores en comparación con otras fracciones. Esto sugiere una mayor presencia de grupos reductores en dichas muestras.

De acuerdo con los resultados, el extracto, la fracción FU y la fracción F9 mostraron el mayor contenido de compuestos fenólicos, expresados en mg EAG/g. En contraste, las fracciones F7, F8 y F10 presentaron valores considerablemente más bajos, lo cual indica una menor concentración de estos metabolitos bioactivos en dichas colectas.

Muestras	Concentración (mgEAG/g)	Concentración (mgEAG/g planta)	DE	Significancia
F7	3,47	34,72	0,022	d
F8	3,84	38,45	0,004	c
F9	4,57	45,70	0,010	b
F10	3,50	35,02	0,017	c
FU	4,95	49,52	0,010	ab
E	5,07	50,74	0,141	a ¹

¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. F7, 8,9,10: fracciones 7,8,9,10; FU: fracción unificada; E: extracto

Tabla 4: Determinación de grupos reductores totales. Elaboración propia

Generalmente, se observa una correlación directa entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de los extractos vegetales. Esto se debe a que los compuestos fenólicos son reconocidos por su capacidad para neutralizar radicales libres, actuando como donadores de electrones o átomos de hidrógeno, y contribuyendo así significativamente a la capacidad antioxidante global de la planta (Belloso, 2015).

En el presente estudio, la actividad antioxidante observada en el extracto y sus fracciones no fue particularmente elevada en comparación con la reportada en

investigaciones similares realizadas en otras especies pertenecientes a la familia *Solanaceae*. Por ejemplo, Huamani (2023) evaluó el contenido de fenoles totales en hojas postcosecha de *Solanum tuberosum* variedad única, obteniendo extractos etanólicos al 10% con un contenido equivalente a 72,11 mg de ácido gálico por 100 mL de extracto. Estos valores son considerablemente superiores a los obtenidos en el presente trabajo.

No obstante, se observaron similitudes con los resultados obtenidos por Alvarado (2021), quienes analizaron el contenido fenólico en frutos maduros de *Solanum pimpinellifolium*. En ese estudio, el extracto etanol-agua mostró un contenido de fenoles totales de 3,53 mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de fruto seco, lo cual se encuentra en el mismo orden de magnitud que las fracciones estudiadas en esta investigación.

Actualmente, existe un creciente interés científico por los compuestos fenólicos, debido a la amplia gama de actividades biológicas que presentan. Estos metabolitos secundarios son considerados uno de los grupos fitoquímicos más relevantes por su contribución al mantenimiento de la salud y su potencial preventivo frente a diversas patologías. Numerosos estudios han demostrado una correlación negativa entre el consumo regular de compuestos fenólicos y la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles, tales como enfermedades

cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, cataratas y otras afecciones asociadas al envejecimiento (Rivera, 2016).

En resumen, los resultados obtenidos mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu evidenciaron una mayor concentración de compuestos fenólicos en el extracto crudo y en la fracción unificada, lo que sugiere una mayor capacidad reductora en estas muestras; sugiriendo que podrían ejercer su actividad antioxidante principalmente a través de mecanismos tanto SET.

4.3.2. Decoloración del radical DPPH⁺. Determinación de la actividad antioxidante y del IC 50

La evaluación de la capacidad antioxidante de extractos vegetales ha recurrido, de manera frecuente, al análisis de su potencial para neutralizar radicales libres. En particular, el ensayo con el radical DPPH permite estimar esta capacidad mediante un mecanismo basado en la donación de átomos de hidrógeno por parte del compuesto evaluado. Esta transferencia de hidrógeno genera la

reducción del radical DPPH, lo cual se manifiesta visualmente a través de un cambio en la coloración de la solución (García, 2012).

Según los resultados obtenidos, se identificaron diferencias estadísticamente significativas en la capacidad antioxidante entre las muestras analizadas. El valor más bajo se registró en las fracciones 7 y 10, con una concentración de 0,42 y 0,47 mg/mL respectivamente, siendo estadísticamente inferior al resto. A este le siguieron las fracciones 8, 9 y U, entre las cuales no se observaron diferencias significativas. En contraste, el extracto presentó el valor más alto de actividad antioxidante, diferencia que también fue estadísticamente significativa, como se resume en la Tabla 5.

Muestras	Concentración (mg/ml)	DE	Significancia
F7	0,42	0,00	c
F8	0,26	0,04	b
F9	0,21	0,02	b
F10	0,47	0,09	c
FU	0,20	0,04	b
E	0,08	0,03	a

¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. F7, 8,9,10: fracciones 7,8,9,10; FU: fracción unificada; E: extracto

Tabla 5: Inhibición del radical DPPH. Elaboración propia

El ensayo con el radical DPPH muestra una mayor sensibilidad hacia antioxidantes de carácter lipofílico, debido a que estos compuestos no son solubles en medios acuosos. Bajo esta premisa, es posible interpretar que la elevada actividad antioxidante observada en el extracto total se debe, en parte, a la capacidad del disolvente utilizado para extraer compuestos de polaridad intermedia con potencial antioxidante, lo que se refleja en la disminución de la absorbancia del radical DPPH (Pyrzynsha, 2013).

En una investigación llevada a cabo por W. Huang (2008) se empleó una técnica de extracción con CO₂ supercrítico modificado con etanol para aislar solanesol crudo a partir de hojas de tabaco. Los autores observaron que dicho extracto presentaba una notable capacidad de eliminación de radicales libres, específicamente frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Asimismo, se estableció una correlación significativa entre la actividad antirradicalaria del extracto y el rendimiento de solanesol crudo, obteniéndose un modelo predictivo con un elevado coeficiente de determinación ($R^2 = 0,946$).

Respecto al porcentaje de inhibición del radical DPPH, tanto el extracto total como sus fracciones mostraron variaciones considerables. El extracto crudo alcanzó una inhibición cercana al 90%, con un valor de IC₅₀ de 0,89 µg/mL (Figura 28), evidenciando una alta capacidad antioxidante. En contraste, las fracciones 7 y 10 presentaron los valores más bajos, con un porcentaje de inhibición en torno al 40%, sin embargo, estos resultados continúan siendo relevantes dentro del contexto del estudio. La capacidad de estabilización del radical DPPH por parte de las muestras evaluadas se ilustra en la Figura 29.

En el estudio desarrollado por Huamani (2023), se evaluó el potencial antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de hojas de papa en etapa postcosecha, utilizando el ensayo del radical DPPH. Los resultados revelaron que

dicho extracto fue capaz de inhibir un 59,45% de la actividad del radical, partiendo de una solución con una absorbancia inicial de 1,016. De forma similar Muñoz (2011) examinó la actividad antioxidante *in vitro* de extractos metanólicos obtenidos de *Nicotiana glauca*, *Nicotiana trigonophylla* y *Solanum rostratum*. En este estudio, se observó que distintas partes de *Nicotiana glauca* presentaron porcentajes de inhibición del radical DPPH superiores al 50% a una concentración de 5 mg/mL.

n

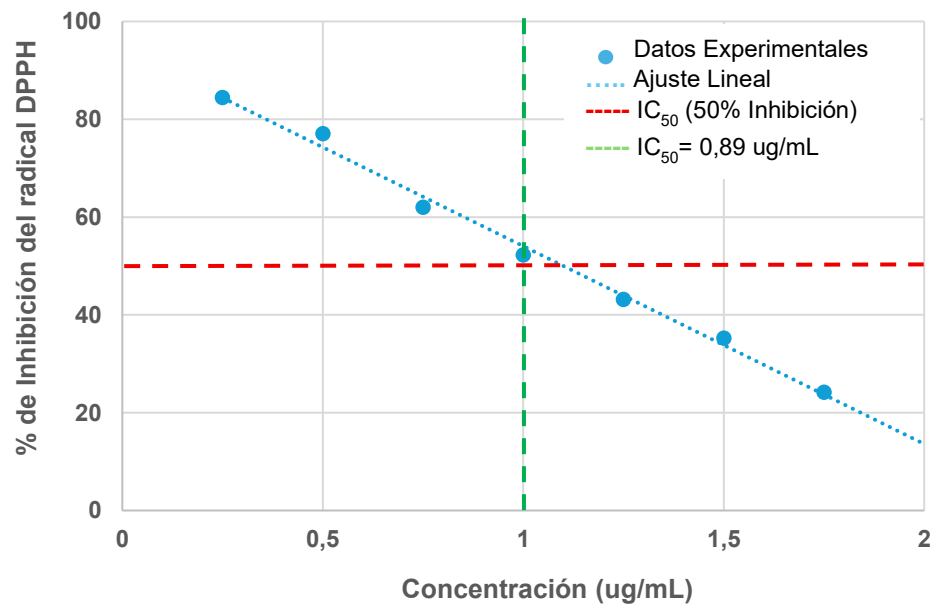


Figura 28: Determinación del IC 50 para el radical DPPH. Elaboración propia

En comparación, la especie analizada en el presente trabajo evidenció un porcentaje de inhibición en el ensayo con DPPH superior al reportado en los estudios mencionados, lo que sugiere una mayor capacidad antioxidante. Esta propiedad potencialmente aporta valor en el desarrollo de formulaciones farmacéuticas orientadas a contrarrestar los efectos del estrés oxidativo.

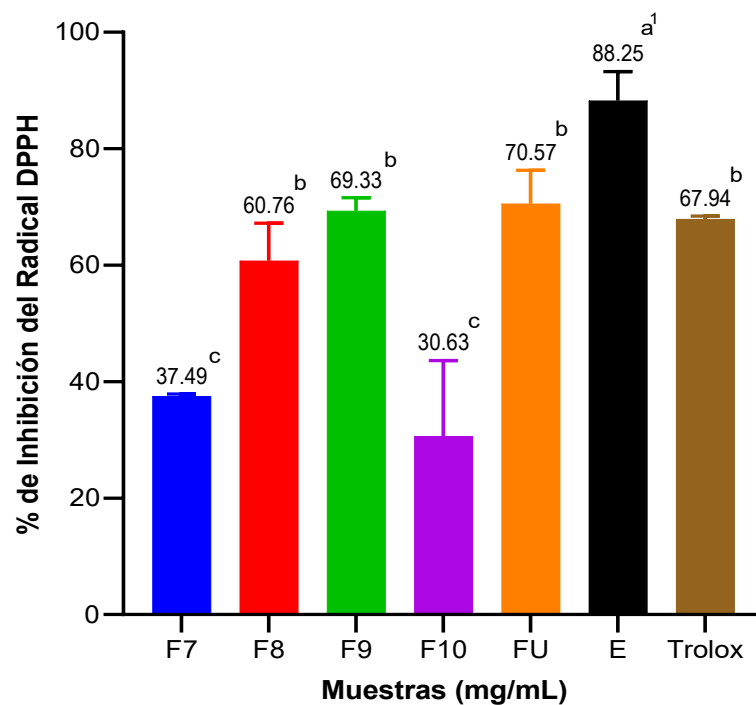


Figura 29: Porcentaje de inhibición del radical DPPH, expresado en porcentaje de protección. Se presenta la media \pm error estándar de triplicado. ¹Letras diferentes

indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

Por otro lado, nuestros resultados presentan similitudes con los obtenidos por Pérez (2021) quien evaluó la actividad antioxidante del extracto acuoso de fruto micropulverizado de *Solanum melongena* L. 'berenjena' (*Solanaceae*) mediante el mismo método. En dicho estudio, se registró una actividad antioxidante de $79,0\% \pm 2,5$ a una concentración de $50 \mu\text{g/mL}$, con un valor de IC_{50} de $30,4 \mu\text{g/mL} \pm 2,0$. Estos hallazgos refuerzan la evidencia de que los metabolitos secundarios presentes en distintas partes de las plantas pertenecientes a la familia *Solanaceae* poseen una destacada capacidad para neutralizar radicales libres, lo que las posiciona como candidatas prometedoras en la búsqueda de fuentes naturales de compuestos antioxidantes.

Cabe señalar que, si bien los mecanismos específicos mediante los cuales el solanesol ejerce su acción antioxidante no han sido completamente dilucidados, se han propuesto algunas vías, tales como la eliminación directa de ROS, la modulación del sistema antioxidante endógeno y la regulación de vías de señalización celular asociadas al estrés oxidativo (X. Yao, 2015).

Los resultados encontrados en este punto evidenciaron que tanto el extracto crudo como algunas fracciones, especialmente la fracción unificada y las fracciones 8 y 9, presentan una destacada capacidad antioxidante. Esta actividad se explicaría por mecanismos de transferencia de hidrógeno, dado el carácter lipofílico de los compuestos predominantes, así como por posibles mecanismos complementarios como la eliminación directa de ROS y la modulación de rutas celulares vinculadas al estrés oxidativo. Estos hallazgos refuerzan el valor del extracto como fuente natural de compuestos con potencial aplicación terapéutica frente al daño oxidativo.

4.3.2.1. Cinética de actividad antioxidante

En el análisis cinético realizado sobre el extracto y sus respectivas fracciones, se evaluó la dinámica de neutralización de radicales libres en función del tiempo. Los resultados indican que la velocidad de reacción depende directamente del contenido de metabolitos secundarios presentes en cada fracción. Se observó una elevada reactividad de los compuestos bioactivos durante la fase inicial de la reacción, alcanzándose un estado estacionario aproximadamente a los 10 minutos, como se muestra en las Figuras 30, 31 y 32.

En particular, la Figura 30 evidencia que la velocidad de la reacción es relativamente baja durante el primer minuto, presentando una tendencia a la estabilización alrededor de los 30 minutos. A partir de los 40 minutos, se alcanza el valor mínimo de la curva, el cual se mantiene constante hasta los 60 minutos, lapso total de observación considerado en ambas fracciones analizadas; valores que difieren del estándar de Trolox donde se alcanzó una disminución rápida del radical DPPH a los 10 minutos de reacción, manteniéndose estable durante todo el periodo de análisis.

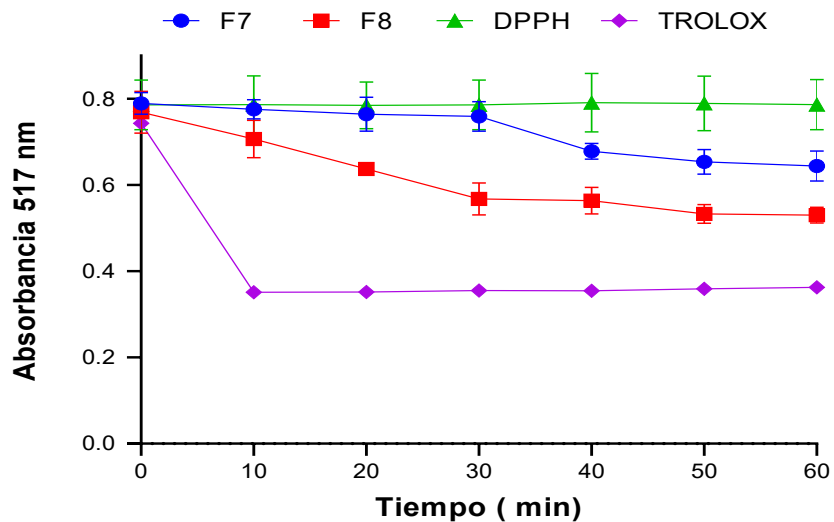


Figura 30: Comportamiento cinético de las fracciones 7 y 8 frente al radical libre DPPH en función del tiempo. Se presenta la media \pm error estándar de triplicado. Elaboración

Propia

En la Figura 31 se observa que la fracción 9 presenta una elevada velocidad de reacción durante los primeros 10 minutos, lo que evidencia una rápida capacidad de neutralización de radicales libres en esta etapa inicial. Posteriormente, la actividad antioxidante alcanza un estado de estabilización, manteniéndose constante desde los 10 minutos hasta el final del periodo de observación, a los 60 minutos, comportamiento similar al estándar de Trolox. En contraste, la fracción 10 exhibe un comportamiento distinto, caracterizado por una reacción inicial más lenta. En este caso, el valor mínimo de la actividad antioxidante no se alcanza sino hasta los 40 minutos, lo que sugiere una menor reactividad inicial en comparación con la fracción 9.

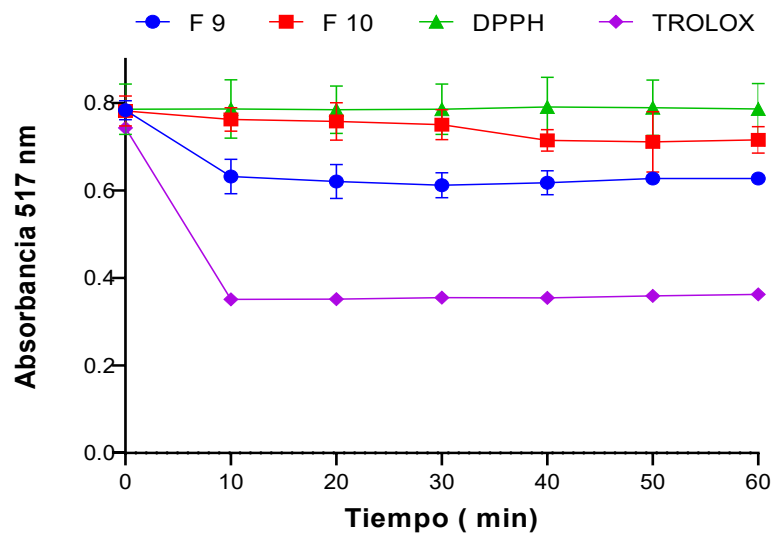


Figura 31: Comportamiento cinético de las fracciones 9 y 10 frente al radical libre DPPH en función del tiempo. Se presenta la media \pm error estándar de triplicado

Elaboración Propia

La Figura 32 muestra que la velocidad de reacción es considerablemente alta durante los primeros 5 minutos, lo que evidencia una fase inicial de rápida neutralización de radicales libres. Posteriormente, la reacción alcanza una fase de estabilización a partir de los 10 minutos, manteniéndose este comportamiento constante hasta los 60 minutos, tiempo total de observación del experimento, resultado comparables con el estándar de Trolox.

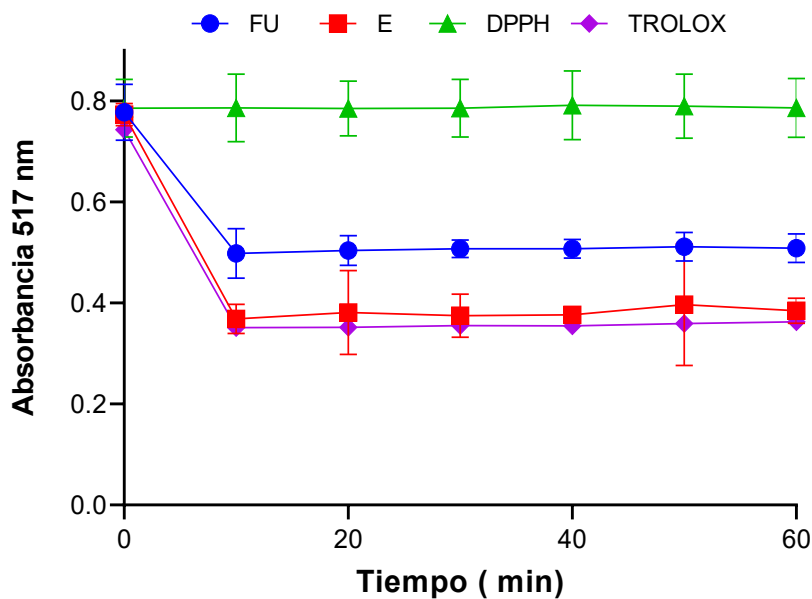


Figura 32: Comportamiento cinético de las fracciones unificada y en el extracto crudo frente al radical libre DPPH en función del tiempo. Se presenta la media \pm error estándar de triplicado. Elaboración Propia

Tal como lo han señalado diversos autores, el análisis del comportamiento de los compuestos durante la fase inicial —extremadamente rápida— de una reacción química permite atribuir esta etapa a la oxidación directa de los antioxidantes por parte del radical DPPH. En contraste, la fase subsiguiente, de menor velocidad, podría deberse a reacciones secundarias que involucran a los productos

oxidados. Los antioxidantes que participan en este tipo de reacciones rápidas suelen poseer grupos funcionales con actividad antirradicalaria capaces de transferir átomos de hidrógeno de manera eficiente en etapas cinéticas iniciales, aunque su capacidad para realizar transferencias de hidrógeno más lentas en etapas posteriores es limitada.

Asimismo, diversos autores han planteado que la interacción antirradicalaria de los compuestos con el radical DPPH ocurre de manera irreversible. Según lo descrito por Guija (2019) y Sendra (2006) la mayoría de las muestras evaluadas tienden a presentar una cinética bifásica: una etapa inicial rápida, seguida de una fase mucho más lenta que tiende a estabilizarse alrededor de los 10 minutos posteriores al inicio de la reacción. A partir de estas observaciones, puede inferirse que las diferencias en la velocidad de reacción están estrechamente relacionadas con la composición química específica de los compuestos antioxidantes presentes en cada planta.

A partir de los resultados obtenidos en el análisis cinético, se confirma que la capacidad antioxidante de los extractos y fracciones está estrechamente vinculada a la velocidad con la que sus compuestos bioactivos reaccionan frente al radical DPPH. Las diferencias observadas en los perfiles de neutralización sugieren la presencia de metabolitos con distinta reactividad y mecanismos de acción, lo cual contribuye a una comprensión más completa del comportamiento

antioxidante del extracto obtenido y sus posibles aplicaciones en sistemas biológicos.

4.3.3. Efecto Quelante sobre Metales de Transición

La actividad quelante hace referencia a la capacidad de ciertos compuestos para actuar como ligandos, es decir, donar dos o más pares de electrones y formar complejos estables con iones metálicos (González, 2016). En el presente estudio, tanto el extracto total como la fracción unificada evidenciaron una alta capacidad quelante, como se observa en la Figura 33. Estos resultados sugieren que el solanesol posee la capacidad de donar múltiples electrones, lo cual le permite formar complejos estables con iones ferrosos (Fe^{2+}). Por otra parte, las fracciones 8 y 9 mostraron un efecto quelante moderado, mientras que las fracciones 7 y 10 evidenciaba bajo efecto quelante de metales de transición, sin embargo, este efecto es superior estadísticamente al control.

Debemos mencionar que no existen estudios similares con extractos de *Nicotiana tabacum* L. Sin embargo, los resultados obtenidos fueron comparados con aquellos reportados por Mankanjuola (2015), quien evaluó la actividad quelante

del extracto de acetato de etilo de hojas de *Camellia sinensis*, planta tradicionalmente utilizada para la preparación de té verde. En ese estudio, se reportó una capacidad quelante de 77,72%, ligeramente inferior a la observada en nuestra investigación. La comparación se realizó con una especie perteneciente a una familia botánica distinta, debido a la ausencia de estudios previos que evalúen el efecto quelante en especies de la familia *Solanaceae*.

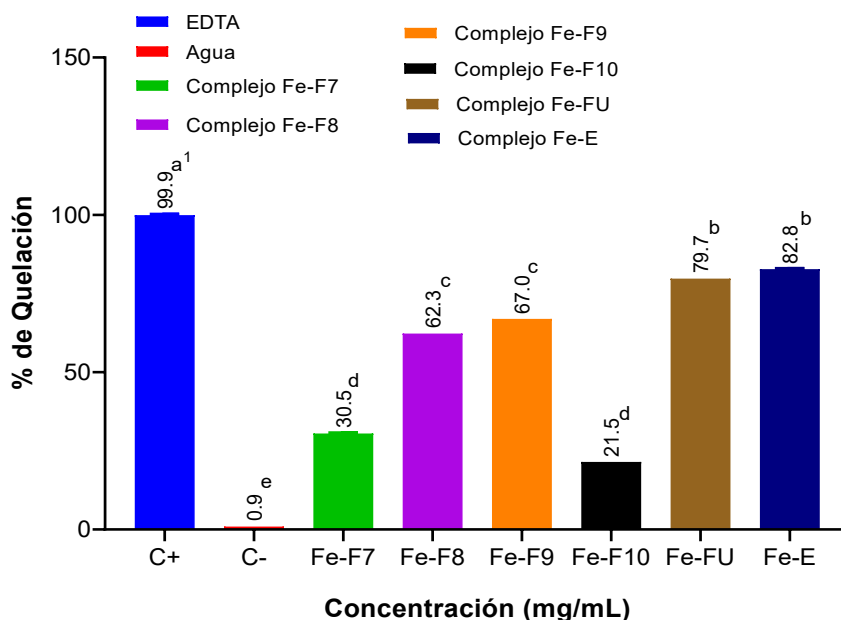


Figura 33: Porcentaje de quelación de metales de transición. Se presentan los valores como media \pm error estándar de tres réplicas independientes. ¹Letras diferentes indican

diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

De manera similar Ruiz (2009) evaluó las propiedades antioxidantes de los productos generados en la reacción de Maillard, centrando su análisis en la influencia de dichos compuestos sobre la absorción de hierro y cobre, y su relación con la capacidad quelante de metales. En ese estudio, se observó que el porcentaje de quelación del ion ferroso osciló entre un 80% y 90%, siendo más elevado en las muestras sometidas a tratamiento térmico a 100 °C. Estos hallazgos son concordantes con los obtenidos en el presente estudio, lo cual refuerza la evidencia de una elevada capacidad de quelación del hierro por parte de los compuestos analizados.

La quelación de iones metálicos de transición, como hierro, cobre, cromo, cobalto y selenio, reviste una importancia fundamental en el contexto biológico. En su forma libre, estos metales pueden participar en reacciones redox, generando ROS como el anión superóxido y el óxido nítrico. La acumulación excesiva de estos iones metálicos no quelados en el organismo puede catalizar reacciones como las de Haber-Weiss y Fenton, conduciendo a la formación de radicales

hidroxilos ($\bullet\text{OH}$), los cuales son altamente reactivos y causan daño celular severo (Díaz, 2015).

No obstante, la presencia de antioxidantes en *Nicotiana tabacum* L. podría permitir la formación de complejos estables (quelatos) con estos iones metálicos, lo que contribuiría a inhibir la generación de radicales hidroxilos. Esta capacidad quelante podría también frenar procesos de peroxidación lipídica, daños al ADN y modificaciones en proteínas y lipoproteínas, mecanismos que se asocian con enfermedades neurodegenerativas como Parkinson, Alzheimer, así como con diversas afecciones cutáneas (Jaramillo, 2016).

A partir de estos resultados, se puede inferir que el mecanismo antioxidante del extracto y las fracciones de tabaco no solo involucra la neutralización directa de radicales libres, sino también la capacidad de quelar iones metálicos de transición como el hierro. Esta doble acción —donación de electrones y formación de complejos estables con metales— contribuye significativamente a la inhibición de reacciones redox generadoras de especies reactivas del oxígeno, reforzando el potencial terapéutico del solanesol como agente antioxidante multifuncional.

4.3.4. Estabilización del Radical Hidroxilo (OH)

El radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) se considera una de las especies reactivas más agresivas presentes en sistemas biológicos. Su alta reactividad se debe a que reacciona casi instantáneamente en el sitio donde se genera, sin posibilidad de difusión a otras zonas. Esta especie presenta tasas de reacción extremadamente elevadas con biomoléculas esenciales como proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y ácidos orgánicos, así como una reactividad considerable con compuestos aromáticos y alifático (Gomez, 2005).

En esta ocasión se decidió trabajar solamente con el extracto crudo y la fracción unificada debido a la complejidad de la reacción que permite la generación del radical OH.

En la Figura 34 se presenta el porcentaje de inhibición del radical hidroxilo mediante la reacción de Fenton, mientras que en la Figura 35 (A, B y C) se muestran los espectros de absorbancia registrados a 532 nm. Como control positivo se utilizó ácido gálico, el cual mostró la mayor capacidad antioxidante, con un $72,0\% \pm 0,005$ de inhibición. El extracto evaluado alcanzó una inhibición del $55,3\% \pm 0,003$ mientras que la fracción unificada presentó la menor actividad,

con un valor de $38,8\% \pm 0,001$. Estos resultados indican una tendencia clara en la capacidad de inhibición del radical hidroxilo, en función de la naturaleza química de la muestra, tomando como referencia la alta actividad antioxidante del ácido gálico.

El radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) tiene la capacidad de iniciar reacciones en cadena mediante la abstracción de átomos de hidrógeno, pero también actúa como un potente agente oxidante, ya que puede captar electrones con facilidad, formando radicales $\text{HO}\bullet$. Además, puede añadirse directamente a estructuras aromáticas y olefínicas, o bien dimerizarse para originar peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En los sistemas biológicos, los principales blancos del daño inducido por esta especie reactiva son los ácidos nucleicos, las proteínas y los ácidos grasos poliinsaturados (Valko, 2007).

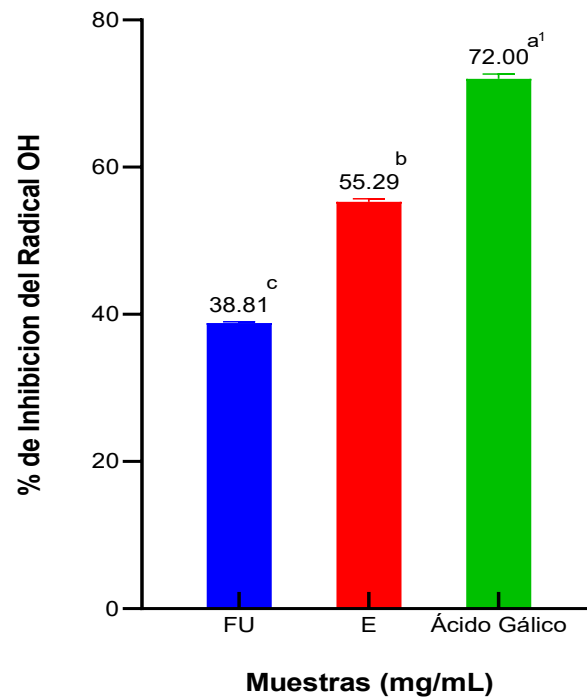


Figura 34: Porcentaje de inhibición del radical hidroxilo. Se presenta la media \pm error estándar de triplicado. ¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

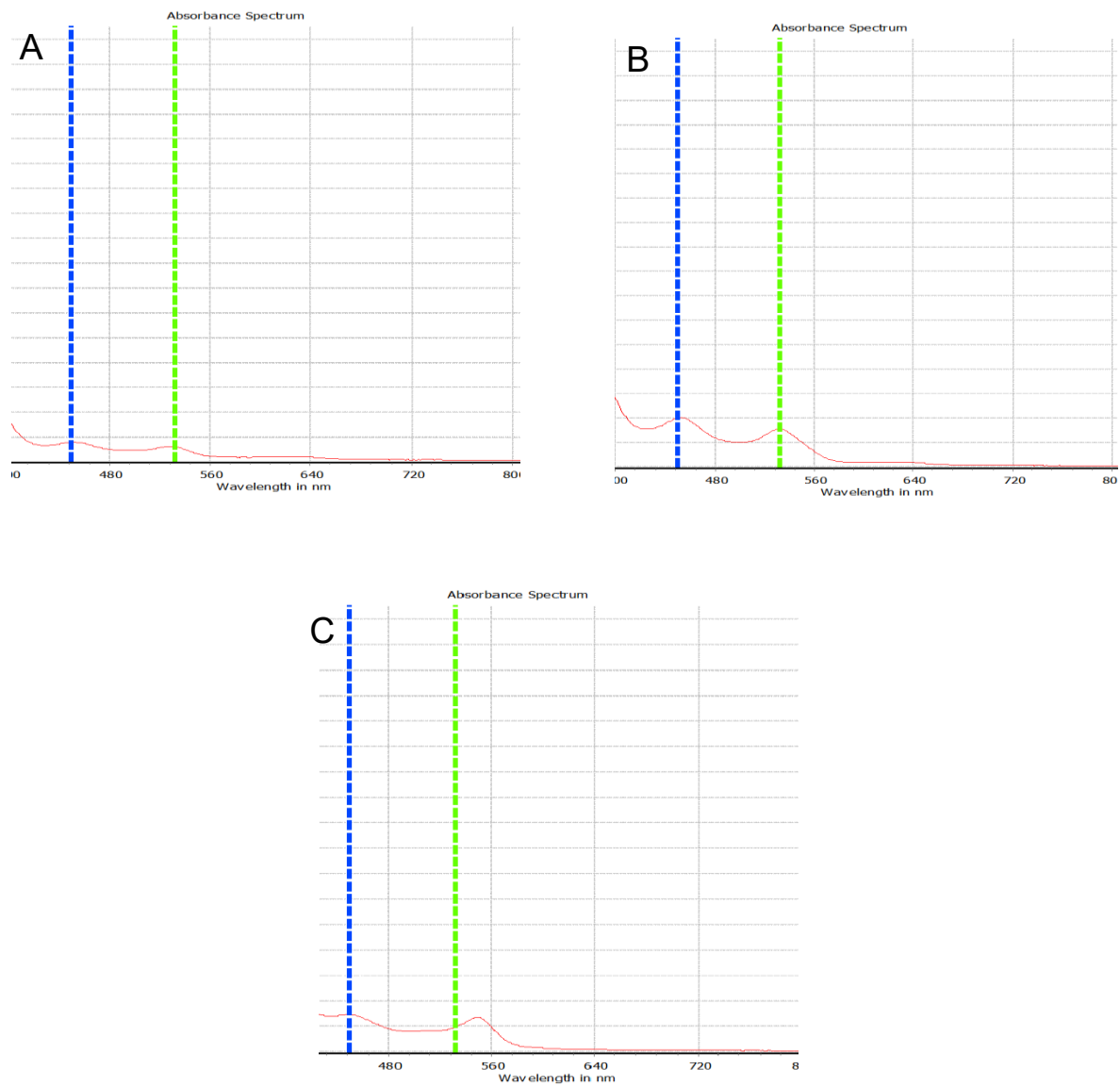


Figura 35: Espectrograma de UV-VIS; A, fracción unificada (FU); B, extracto crudo de tabaco (E); C, estándar de ácido gálico. Línea azul, longitud de onda inicial de referencia; línea verde, longitud de onda de medición principal, donde se detecta el máximo de absorción del radical $\text{OH}\cdot$. Elaboración Propia

El solanesol, compuesto característico de *Nicotiana tabacum*, presenta una notable capacidad de neutralización de radicales libres, atribuida a la presencia de múltiples dobles enlaces no conjugados. Esta estructura le confiere una elevada reactividad antioxidante, comparable incluso a la de estándares reconocidos como el Trolox, específicamente en la depuración de aniones superóxido y radicales hidroxilos (Y. Ma, Hou, T., Zhang, J., Zhou, Y., Xu, R., Liu, Y and Wang, Y, 2011).

Los resultados obtenidos en la presente investigación son consistentes con los reportados por Z. a. Q. Zhang, J (2012), quien evaluó la actividad antioxidante de cuatro variedades de *Flammulina velutipes* (seta Enoki). En dicho estudio, se observó que, la inhibición del radical hidroxilo osciló entre 28,10% y 74,2%, valores comparables a los obtenidos con el extracto evaluado en este trabajo.

Sin embargo, al contrastar nuestros hallazgos con los reportados por Valverde (2014) evidencia una menor capacidad de inhibición del radical hidroxilo. En ese estudio se evaluaron tres variedades de *Ipomoea batata* (camote), observándose que la formación de radicales superóxido e hidroxilo disminuía progresivamente con el incremento de la concentración del extracto. Entre las variedades analizadas, la I.B. morada presentó la mayor capacidad de inhibición a una concentración de 25 mL, alcanzando un 90,8%, seguida por las variedades

amarilla (81,4%) y naranja (84,8%). Estos resultados refuerzan la relación directa entre la concentración del extracto y su capacidad antioxidante.

La evaluación de la capacidad antioxidante del pepino (*Solanum muricatum Aiton*) frente al radical hidroxilo reveló que, a una concentración de 0,2 mg/mL, dicho alimento logró inhibir un 46,46% de la actividad de esta especie reactiva. Cuando la concentración se incrementó a 1,0 mg/mL, la inhibición alcanzó un 89,63%, con un valor de IC₅₀ de 0,23 mg/mL (Sudra, 2011). Estos resultados guardan similitud con los hallazgos obtenidos en el presente estudio, reforzando la idea de una relación directa entre concentración y capacidad de neutralización del radical hidroxilo.

Por otra parte, se ha informado que el solanesol presenta una notable capacidad para absorber radiación ultravioleta, además de inhibir la actividad de la tirosinasa, una enzima clave en la biosíntesis de melanina. Este proceso está íntimamente relacionado con alteraciones pigmentarias en la piel humana (Bai, 2014). Por consiguiente, el solanesol podría constituir un agente prometedor en la prevención del envejecimiento cutáneo y en la disminución de la formación de manchas asociadas a la edad.

Se puede concluir que el extracto de *Nicotiana tabacum* L. posee una capacidad moderada para inhibir el radical hidroxilo, lo que sugiere que su mecanismo antioxidante podría estar parcialmente mediado por la neutralización directa de especies reactivas altamente tóxicas. Estos resultados permiten identificar que el solanesol actúa como un agente multifuncional antioxidante, eficaz tanto en la prevención del daño oxidativo como en la interrupción de procesos prooxidantes, lo que respalda su potencial aplicación en el ámbito biomédico y cosmético.

Los ensayos antioxidantes *in vitro* realizados en el presente estudio permitieron caracterizar la capacidad del extracto y sus fracciones para neutralizar radicales libres y quelar iones metálicos, mediante mecanismos tanto HAT como SET. No obstante, si bien estos resultados aportan información valiosa sobre el potencial antioxidante a nivel químico, es fundamental evaluar si dicha actividad se traduce en efectos protectores a nivel celular.

4.4. Determinación del efecto protector contra el estrés oxidativo del extracto obtenido de *Nicotiana tabacum* L., con presencia de solanesol, en líneas celulares EAhy 926

El daño oxidativo inducido en moléculas biológicamente relevantes ha sido ampliamente vinculado a procesos fisiológicos como el envejecimiento, así como a una variedad de patologías, entre las que se incluyen enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer, e incluso distintos tipos de cáncer. La magnitud y consecuencias del daño acumulativo provocado por especies reactivas del oxígeno dependen, entre otros factores, del tipo de tejido u órgano en el cual se manifiesta el proceso oxidativo (Edrey, 2014).

4.4.1. Determinación de la citotoxicidad celular en células endoteliales

Como paso inicial, se procedió a determinar la posible citotoxicidad de las concentraciones seleccionadas del extracto en la línea celular EA.hy926, con el objetivo de identificar condiciones seguras para los ensayos posteriores.

Para ello, las células endoteliales humanas EA.hy926 fueron incubadas durante 24 horas con concentraciones crecientes del extracto de *Nicotiana tabacum* L. enriquecido con solanesol, y la viabilidad celular fue evaluada mediante el ensayo de MTT (Figuras 36 y 37). El análisis del extracto crudo demostró que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos tratados y el grupo control negativo. La incubación con el extracto no indujo una disminución significativa en la viabilidad celular en comparación con el grupo control ni con el estándar de solanesol, lo que sugiere una baja citotoxicidad en las condiciones ensayadas.

Sin embargo, se observó que una concentración de 10 mg/mL del extracto (CE10) presentó la mayor toxicidad (reducción del 30% en la viabilidad), aunque sin diferencia significativa con respecto al control positivo. Este efecto podría atribuirse a la presencia de otros compuestos en el extracto crudo con potencial citotóxico o a la posible presencia de residuos de solventes orgánicos derivados del proceso de preparación. Por otro lado, las concentraciones CE 0,01, CE 0,1 y CE 1 evidenciaron una baja citotoxicidad, sin diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control negativo ni con el estándar de solanesol a una concentración de 1 mg/mL.

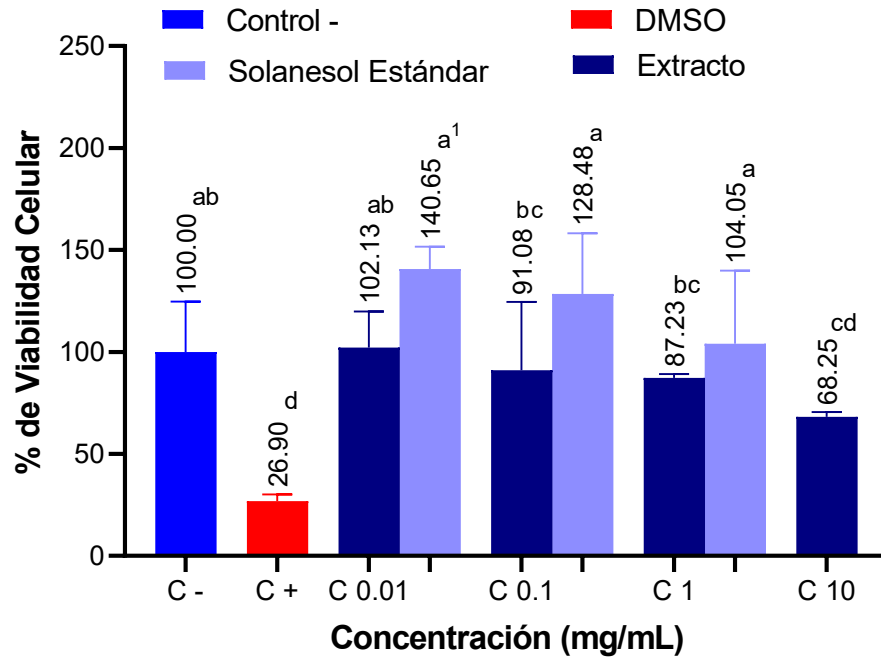


Figura 36: Efecto sobre la viabilidad de células endoteliales del extracto crudo de solanesol. Los valores son promedios \pm D.E. (n=4). ¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

Por otro lado, al analizar las fracciones purificadas del extracto crudo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control positivo y el estándar de solanesol en comparación con los grupos tratados ($p >$

0,05). Como se muestra en la Figura 36, la incubación con dichas fracciones no provocó una reducción significativa en la viabilidad celular respecto al control.

Dentro de las condiciones evaluadas, la fracción CF 0,01 presentó la mayor citotoxicidad, con una reducción aproximada del 20% en la viabilidad celular; sin embargo, esta disminución no fue estadísticamente significativa en comparación con el control negativo. Esta baja toxicidad podría atribuirse a una menor concentración del metabolito de interés en esta fracción. En contraste, la fracción CF 10 mostró la menor toxicidad, sin efectos negativos sobre la viabilidad celular (0% de reducción).

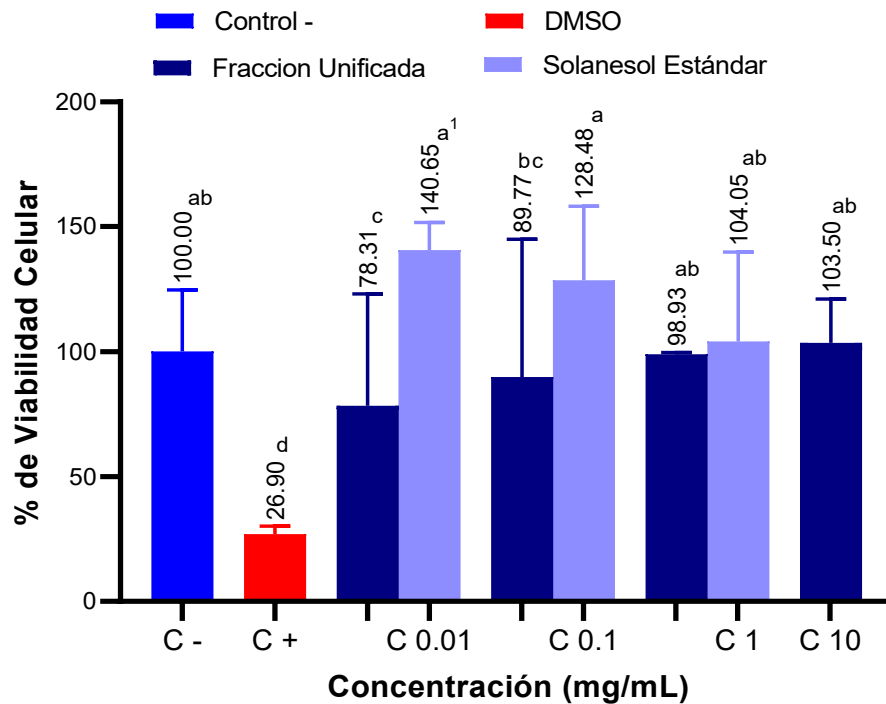


Figura 37: Efecto sobre la viabilidad de células endoteliales en las fracciones de extracto obtenidas. Los valores son promedios \pm D.E. (n=4). ¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

Mediante el ensayo de viabilidad celular MTT, se evaluó el potencial citotóxico del extracto de *Nicotiana tabacum L.* enriquecido con solanesol en la línea celular EA.hy926. Los resultados indicaron que dicho extracto no presenta efectos

citotóxicos sobre estas células, ya que la viabilidad se mantuvo similar al control y en algunas concentraciones incluso mostró un aumento significativo.

El solanesol es un alcohol terpénico presente en plantas de la familia *Solanaceae*, como el tabaco y la papa, reconocido por sus propiedades farmacológicas, entre las que destacan actividades antioxidantes y antitumorales.

Es relevante señalar que la ausencia de citotoxicidad observada en este estudio difiere de lo reportado por O. Álvarez (2019), quien investigó la actividad citotóxica del extracto etanólico y saponinas aisladas de *Solanum elaeagnifolium* en células de cáncer de mama, obteniendo un IC_{50} de 14,5 $\mu\text{g/mL}$ y evidenciando una actividad citotóxica significativa. En ese mismo trabajo, el autor recomendó evaluar la toxicidad en células normales para establecer selectividad. Asimismo, Hernández (2017) reportó que una fracción aislada (FVLC7) del extracto metanólico de frutos de *Solanum elaeagnifolium* redujo significativamente la viabilidad celular en líneas tumorales humanas (Vero, HeLa y MCF-7), con una disminución del 66,10% en la línea MCF-7.

Por otra parte, Arias (2018) estudió la actividad antitumoral de extractos de tres especies de Kalanchoe (*K. pinnata*, *K. gastonis-bonnierii* y *K. flammea*) en células de cáncer de próstata (PC3). Los extractos contenían metabolitos secundarios

como terpenos y alcaloides. El extracto de acetato de etilo de *K. flammea* mostró un IC₅₀ de 33,23 µg/mL en células PC3 y no fue tóxico para linfocitos normales, sugiriendo una posible selectividad hacia células tumorales, lo cual concuerda con la baja citotoxicidad observada en nuestro estudio.

A partir de esta base, se procedió a evaluar el efecto del extracto sobre la generación y neutralización de ROS en las células, dado que la modulación del estrés oxidativo es uno de los mecanismos principales asociados a las propiedades terapéuticas de compuestos bioactivos como el solanesol. Este análisis permitirá profundizar en la comprensión del potencial antioxidante y protector del extracto en un contexto celular.

4.4.2. Detección de especies reactivas de oxígeno total

La actividad antioxidante de las muestras fue evaluada mediante un ensayo de inhibición de ROS inducidas por peróxido de hidrógeno, utilizando la sonda DCFH-DA para cuantificar la fluorescencia tras 5 minutos de incubación. Los

resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de ROS en relación con el control positivo.

En la Figura 38 se evidencia un aumento significativo ($p < 0,05$) en la fluorescencia relativa (URF) del grupo control positivo en comparación con el control negativo, lo que indica una marcada inducción del estrés oxidativo. Las muestras tratadas con concentraciones de 0,01; 0,1 y 1 mg/mL mostraron una reducción significativa en la fluorescencia respecto al control positivo, evidenciando un efecto protector dosis-dependiente. No obstante, a la concentración de 10 mg/mL (C10), dicho efecto protector disminuyó, lo que sugiere una posible pérdida de eficacia o un comportamiento bifásico a altas concentraciones. Esto coincide con reportes previos que indican que concentraciones bajas de extractos pueden modular eficazmente los niveles de ROS, mientras que concentraciones elevadas podrían generar efectos prooxidantes (Zhou, 2016).

Estos resultados contrastan con los obtenidos en la evaluación *in vitro* de capacidad antioxidante del extracto, ya que en presencia de H_2O_2 , ciertos compuestos fenólicos o reductores pueden favorecer la formación de radicales hidroxilos mediante reacciones tipo Fenton, especialmente si hay trazas de iones metálicos, actuando como prooxidantes. Sin embargo, en otros sistemas, estos

mismos compuestos pueden capturar radicales libres y proteger a las células, manifestando una actividad antioxidante (Deavall, 2012).

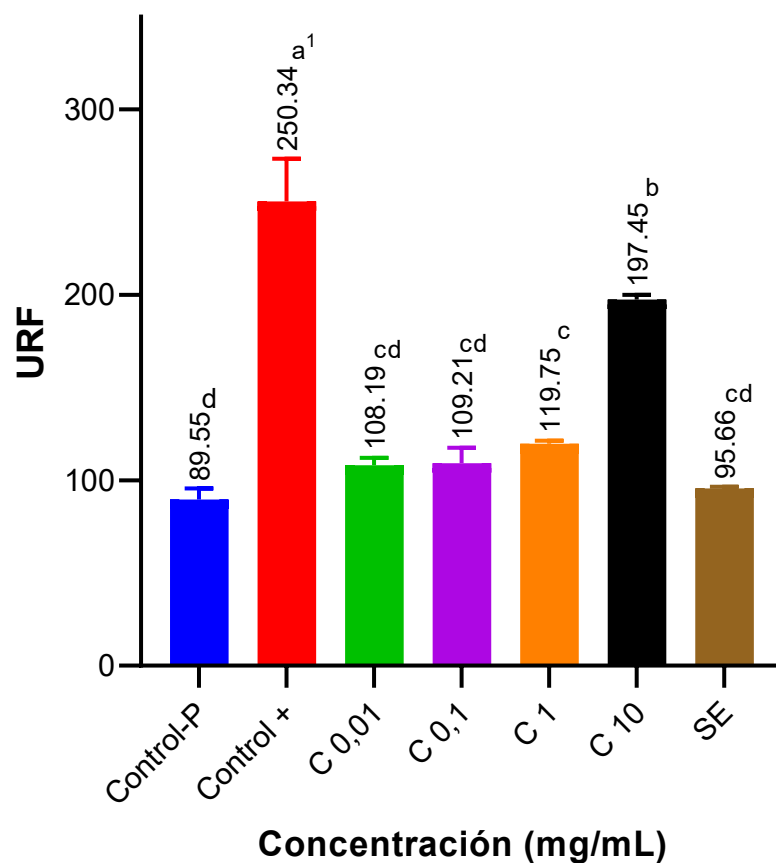


Figura 38: Efecto del extracto derivado de *Nicotiana Tabacum L.* sobre la generación de ROS en células endoteliales humanas inducida por H₂O₂ (0,3%). Células control (Control+) con H₂O₂, (Control -P) células con sonda y sin H₂O₂ en ausencia de

extractos, (C 0.01-10) diferentes concentraciones del antioxidante, (SE) estándar de solanesol. ¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

Finalmente, los extractos tratados con concentraciones entre 0,01 y 0,1 mg/mL no presentaron diferencias significativas en la URF respecto al estándar de solanesol, lo que sugiere una actividad antioxidante moderada para estas muestras.

Un estudio publicado en *Toxicology in Vitro* examinó los efectos del humo de tabaco y de extractos derivados sobre células epiteliales, revelando que el extracto de tabaco puede ejercer un efecto antioxidante a bajas concentraciones y un efecto prooxidante a concentraciones elevadas, dependiendo de los componentes específicos presentes en el extracto (Centeno, 2024).

De manera similar, en cultivos celulares de HepG2 se evaluó la capacidad de la nicotina para inducir estrés oxidativo. Los resultados indicaron que la nicotina favorece la generación de especies reactivas de oxígeno, sugiriendo un efecto prooxidante en estas células. Sin embargo, también se identificaron compuestos antioxidantes en los extractos de tabaco que mitigaban este efecto cuando se

encuentran a bajas concentraciones, lo cual explica el comportamiento observado en nuestro estudio respecto al extracto crudo (Yarahmadi, 2017).

En contraste, al analizar las fracciones obtenidas tras el proceso de purificación del extracto, se observó un efecto antioxidante claramente pronunciado, tal como se muestra en la Figura 39. La fracción CF a una concentración de 1 mg/mL (CF 1) presentó la mayor capacidad antioxidante, exhibiendo valores de inhibición moderada que fueron comparables con el estándar de solanesol (SE) y con el control negativo. Las concentraciones más bajas de CF (0,01 y 0,1 mg/mL) también evidenciaron efectos antioxidantes que fluctuaron entre niveles bajos y moderados a los cinco minutos de reacción.

Estos hallazgos sugieren que el proceso de fraccionamiento permitió concentrar compuestos con actividad antioxidante, al tiempo que eliminó moléculas con potencial prooxidante presentes en los extractos crudos. Este comportamiento diferencial entre el extracto original y sus fracciones destaca la relevancia de la purificación para revelar el verdadero potencial antioxidante de los metabolitos presentes en la matriz vegetal estudiada.

En conclusión, las fracciones puras demuestran una capacidad significativa para contrarrestar el estrés oxidativo inducido, lo cual está en concordancia con

estudios previos que atribuyen dichas propiedades antioxidantes a estos compuestos.

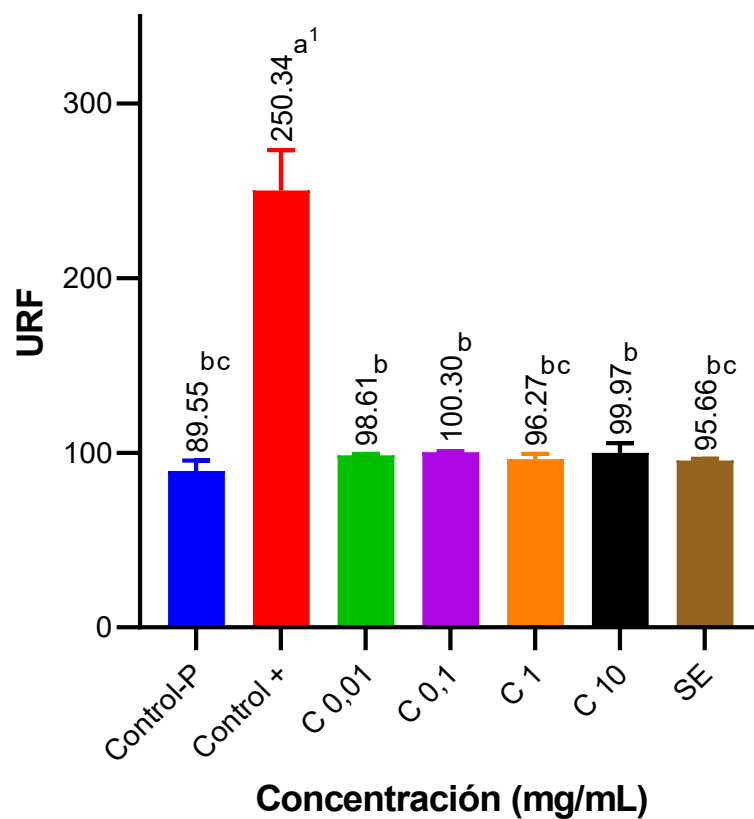


Figura 39: Efecto de las fracciones derivadas de *Nicotiana Tabacum L.* sobre la generación de ROS en células endoteliales humanas inducida por H₂O₂ (0,3%). Células control (Control+) con H₂O₂, (Control -P) células con sonda y sin H₂O₂ en ausencia de extractos, (C 0.01-10) diferentes concentraciones del antioxidante, (SE)

estándar de solanesol. ¹Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre medias, según ANOVA de un factor, $p < 0,05$. Elaboración propia.

El solanesol ha sido ampliamente estudiado debido a sus destacadas propiedades antioxidantes. En una investigación publicada por X. Liu, Zhang, X., & Xu, H (2015) en *Food & Function*, se evaluó su capacidad para neutralizar radicales libres lipídicos y prevenir la peroxidación de lípidos, así como su capacidad para inhibir la actividad de la enzima tirosinasa. Los resultados mostraron que el solanesol es eficaz en la captura de radicales libres, lo que sugiere su potencial utilidad en la prevención del envejecimiento cutáneo y en la inhibición de la formación de placas seniles.

Asimismo, una revisión sistemática publicada en *Frontiers in Pharmacology* (L. Zhang, Wang, Y., & Lin, Y, 2019) recopiló múltiples estudios que destacan, además de su capacidad antioxidante, las propiedades antiinflamatorias, neuroprotectoras y antimicrobianas del solanesol. Estos efectos beneficiosos se atribuyen, en gran medida, a su capacidad para modular la producción de especies reactivas de oxígeno y regular diversas rutas de señalización celular implicadas en procesos inflamatorios y oxidativos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio para las fracciones del extracto de *Nicotiana tabacum* L., ricas en solanesol, confirmaron su eficacia antioxidante, en concordancia con lo reportado por L. Zhang, Wang, Y., and Wang, Q (2023). En dicho estudio, se evaluó el efecto protector del solanesol frente al daño oxidativo inducido por hiperglucemia en hepatocitos humanos normales (células L-02). Los resultados demostraron que el solanesol mejoró la viabilidad celular, disminuyó la liberación de enzimas hepáticas como ALT, AST y LDH, incrementó la actividad de las enzimas antioxidantes GSH-Px, SOD y CAT, reguló los niveles intracelulares de ROS, inhibió la peroxidación lipídica y restauró el potencial de membrana mitocondrial. Además, el solanesol promovió la activación de la vía Nrf2 mediante la inhibición de Keap1, favoreciendo la translocación nuclear de Nrf2 y la expresión de genes antioxidantes regulados aguas abajo, como NQO1 y HO-1.

En otro estudio X. a. L. Yao, B (2017), demostraron que el solanesol inducía la expresión de HO-1 y suprimía la producción de citocinas proinflamatorias en células RAW264.7, a través de la activación de las vías de señalización p38 y Akt. Este efecto sugiere una acción antiinflamatoria mediada por la regulación de especies reactivas del oxígeno.

En este contexto, la demostración de una actividad antioxidante eficaz, combinada con una baja citotoxicidad, justifica la exploración del extracto fraccionado en el desarrollo de formulaciones tópicas. Esta propuesta busca aprovechar el potencial del solanesol y otros compuestos bioactivos del extracto en la protección cutánea frente al estrés oxidativo.

De este modo, los ensayos celulares realizados no solo validan la bioactividad del extracto en condiciones controladas, sino que establecen una base científica sólida para su aplicación en el diseño de estrategias terapéuticas innovadoras y seguras en el ámbito dermatológico y cosmecéuticos.

4.5. Formulación de un gel a base de solanesol

Se desarrollaron dos formulaciones tópicas utilizando tanto el extracto crudo como la fracción purificada de *Nicotiana tabacum* L., incorporadas en una matriz polimérica de Carbopol. Estas formulaciones presentaron características fisicoquímicas adecuadas para su uso cutáneo, justificando el uso de Carbopol por su elevada capacidad de retención hídrica, transparencia, compatibilidad con principios activos lipofílicos y aceptable perfil sensorial sobre la piel.

El gel formulado con el extracto crudo mostró una coloración amarilla translúcida, mientras que la formulación con la fracción unificada presentó una apariencia blanca translúcida. Esta diferencia visual se atribuye a la eliminación de compuestos cromóforos —como pigmentos, flavonoides y otros polifenoles— durante el proceso de purificación. Cabe destacar que estos resultados coinciden con lo reportado por Naik (2023), quien describió una apariencia blanquecina y translúcida en geles formulados con solanesol al 1% utilizando Carbopol 934, lo cual concuerda con la apariencia observada en nuestra formulación purificada (Figura 40).

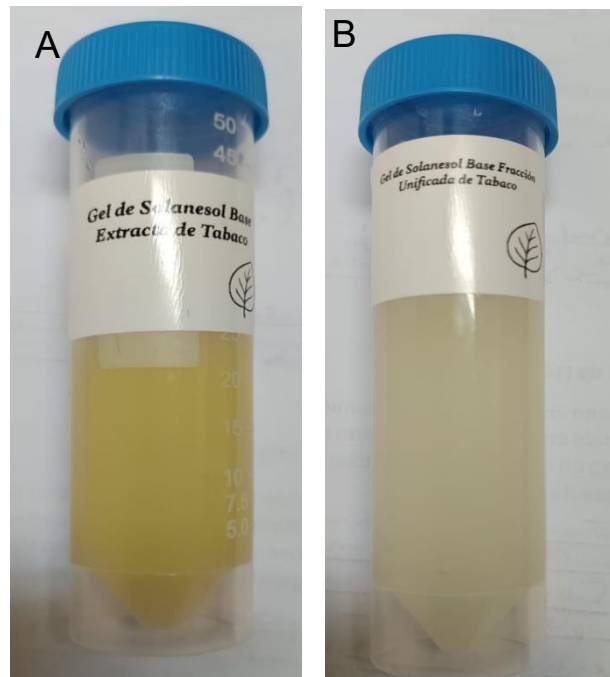


Figura 40: Gel formulado a base de solanesol; A, gel de crudo de extracto; B, gel de fracción purificada. Elaboración Propia

4.5.1. Parámetros fisicoquímicos del gel de solanesol

Ambas formulaciones desarrolladas, tanto la que contiene el extracto crudo como la basada en la fracción purificada, mostraron una adecuada homogeneidad, lo

que asegura una distribución uniforme del principio activo en toda la matriz del gel. El valor de pH registrado se mantuvo dentro del rango neutro, con $7,3 \pm 0,07$ para el gel con extracto y $7,2 \pm 0,02$ para la formulación con la fracción unificada, siendo ambos valores compatibles con el pH fisiológico de la piel. Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Sridevi (2017), quien también observó un pH casi neutro en formulaciones similares, lo que las hace adecuadas para aplicaciones tópicas sin riesgo de irritación cutánea.

Los valores de viscosidad obtenidos indican que ambas formulaciones presentan una consistencia ligera, favoreciendo su aplicación sobre la piel y su rápida absorción. Esta propiedad permite una adecuada extensibilidad del producto sin que este se disperse de manera excesiva. Sin embargo, estos resultados difieren parcialmente de los reportados por Sridevi (2017), donde se observaron formulaciones de mayor viscosidad, posiblemente debido a diferencias en la concentración del polímero incorporado.

En cuanto al contenido de principio activo, el gel elaborado a partir del extracto crudo presentó un contenido de droga de $1,094 \pm 0,01\%$, mientras que el gel formulado con la fracción unificada mostró un contenido de $0,974 \pm 0,03\%$. Estos resultados evidencian que ambas formulaciones conservaron de forma adecuada el principio activo durante el proceso de incorporación al vehículo gelificante, con

valores cercanos al 100% de recuperación esperada; mostrando una buena correspondencia entre el valor teórico y el contenido experimentalmente determinado mediante espectrofotometría UV-Visible.

La ligera desviación positiva en la formulación con extracto podría deberse a la presencia de otros compuestos absorbentes a 220 nm en el extracto crudo, lo cual podría haber sobreestimado levemente la concentración de solanesol durante la lectura espectrofotométrica. En contraste, la formulación con la fracción unificada, al haber pasado por un proceso de purificación, mostró un contenido más ajustado a la concentración teórica, con una variabilidad ligeramente mayor atribuible a la precisión de la técnica analítica y al procedimiento de muestreo.

Estos resultados están en concordancia con estudios previos como los de Naik (2023), quien reportó una recuperación del 98% del principio activo en formulaciones gelificadas con solanesol utilizando Carbopol 934, destacando su compatibilidad con compuestos lipofílicos y su capacidad de mantener la estabilidad del principio activo. Asimismo, los valores de pH y viscosidad obtenidos se mantienen dentro de rangos aceptables para formulaciones tópicas, favoreciendo la estabilidad fisicoquímica del principio activo y su adecuada liberación desde la matriz gelificada.

En conjunto, los resultados del contenido de droga respaldan la efectividad del método de incorporación empleado y sugieren que ambas formulaciones son viables para estudios posteriores de estabilidad, liberación y evaluación biológica del solanesol.

El contenido de fármaco en las formulaciones desarrolladas se mantuvo dentro de los límites establecidos por la Farmacopea India (IP), garantizando así la calidad y estabilidad del producto final. Los valores obtenidos se resumen en la Tabla 6.

Parámetros	Extracto	Fracción Unificada
Color y Apariencia	Amarillo y translúcido	Blanco y translúcido
Homogeneidad	Buena	Buena
pH	7,3 ± 0,07	7,2 ± 0,02
Viscosidad (cps)	3719 ± 47	3884 ± 47
Contenido de droga (%)	1,094 ± 0.01	0,974 ± 0.03

Tabla 6: Evaluación del Gel de Solanesol

En síntesis, los resultados obtenidos evidencian que la matriz gelificada elaborada con Carbopol permitió el desarrollo de una formulación tópica con características fisicoquímicas compatibles con los estándares previamente reportados en la literatura científica. Esto posiciona a las formulaciones diseñadas como candidatas prometedoras para futuras evaluaciones enfocadas en la estabilidad del producto, el perfil de liberación del principio activo y la validación de su eficacia biológica. En conjunto, las formulaciones desarrolladas representan sistemas potencialmente seguros y estables para la liberación tópica de solanesol, sentando las bases para futuras evaluaciones de estabilidad acelerada, perfiles de liberación y ensayos biológicos sobre líneas celulares.

Considerando la baja citotoxicidad observada en modelos celulares, la capacidad antioxidante intracelular validada, y las propiedades fisicoquímicas adecuadas de las formulaciones tópicas, se consolida el potencial del solanesol extraído de residuos de *Nicotiana tabacum* L. como candidato prometedor para el desarrollo de productos dermatológicos. En las conclusiones generales se discutirán los aportes integrales de este estudio, así como sus implicancias para el aprovechamiento de subproductos vegetales en el diseño de formulaciones terapéuticas innovadoras.

5. CONCLUSIONES

1. Se logró obtener un extracto enriquecido en solanesol a partir de hojas de *Nicotiana tabacum L.* con un 94% de pureza mediante una extracción asistida por ultrasonido, la cual demostró ser eficiente, rápida y menos demandante en cuanto a solventes y energía, en comparación con métodos tradicionales.
2. El extracto y sus fracciones evidenciaron propiedades antioxidantes significativas, con un IC₅₀ de 0,89 ug/mL, determinadas a través de múltiples ensayos *in vitro*. Se observó actividad relevante en la determinación de grupos reductores, inhibición del radical DPPH, quelación de iones metálicos de transición y neutralización del radical hidroxilo; ofreciendo una protección integral frente al estrés oxidativo.
3. En las pruebas realizadas con células endoteliales humanas, el extracto no presentó citotoxicidad significativa, incluso a concentraciones elevadas. Además, se demostró su capacidad para reducir la generación de especies reactivas de oxígeno inducidas por peróxido de hidrógeno, mostrando un efecto protector dependiente de la concentración. Este efecto fue más pronunciado en las fracciones purificadas, lo cual sugiere que el

fraccionamiento mejora la eficacia antioxidante del extracto al eliminar compuestos prooxidantes.

4. Se formuló un gel a base del extracto enriquecido con un 98% de solanesol que presentó características fisicoquímicas adecuadas para su uso tópico. Estas propiedades aseguran estabilidad, aplicabilidad y compatibilidad dérmica, posicionando al gel como una potencial alternativa cosmecéutica o terapéutica para afecciones cutáneas asociadas al estrés oxidativo.

5. Los resultados obtenidos respaldan el potencial terapéutico del solanesol como agente antioxidante y protector celular, especialmente en contextos relacionados con el daño oxidativo cutáneo. Además, se promueve el aprovechamiento de residuos de la industria tabacalera para la obtención de productos de valor agregado, lo cual constituye una estrategia sustentable e innovadora.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrupis, S., Maekawa, E. y Suzuki, K. (2000). Industrial utilization of tobacco stalks II: preparation and characterization of tobacco pulp by steam explosion pulping. *Journal of Wood Science*, 46(3), 222. doi: 210.1007/BF00776453.
- Alawode, T., Lajide, L., Owolabi, B. and Olaleye, MT. (2018). Phytochemical Investigation, In vitro antioxidant and anti-inflammatory evaluation of stem extracts of Solanum erianthum. *International Journal of Herbal Medicine*, 6(2), 78-83.
- Alvarado, E. a. R., JC. (2021). Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante de Solanum pimpinellifolium. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/20.500.11962/29340>.
- Álvarez, A., Rodríguez, JM. y Salas, A. (2020). Revisión sistemática del carcinoma basocelular. *Rev. méd. sinerg*, 5(5), e483.
- Álvarez, O. (2019). Evaluación del efecto citotóxico del extracto etanólico y saponinas terpénicas de Solanum elaeagnifolium sobre células de cáncer de mama triple negativo. *Polibotánica*, 59, 293–309. <https://doi.org/210.18387/polibotanica.18359.18315>.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1025b04739>.
- Arias, I. O. (2018). Cytotoxic effect of Kalanchoe flammaea and induction of intrinsic mitochondrial apoptotic signaling in prostate cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 283–292. <https://doi.org/210.1016/j.jep.2018.1003.1029>.
- Atla, S. R., Raja, B., Dontamsetti, B.R. (2014). A new method of extraction, isolation and determination of solanesol from tobacco waste (Nicotiana tabacum L.) by non-aqueous RP-HPLC. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 6, 543–546.
- Bai, Q. (2014). Antioxidant function of solanesol and its inhibitory effect on tyrosinase. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 31(4), 833-836.
- Banožić, M., Banjari, I., Jakovljević, M., Šubarić, D., Tomas, S., Babić, J., Jokić, S. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of some bioactive compounds from tobacco waste. *Molecules*, 24, 1611.
- Banožić, M., Babić, J., and Jokić, S. (2020). Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. *Industrial Crops and*

- Products*, 144, 112009.
<https://doi.org/112010.111016/j.indcrop.112019.112009>. .
- Basha, B. N., Prakasam, K. and Goli, D. (2011). Formulation and evaluation of gel containing the fluconazole-antifungal agent. *Int. J. Drug Dev. Res*, 3, 109-128.
- Battisti, V., Maders, L., Bagatini, M., Reetz, L., Chiesa, J. y Battisti, I. (2011). Oxidative stress and antioxidant status in prostate cancer patients: Relation to Gleason score, treatment and bone metastasis. *Biomed.Pharmacother*, 65(7), 516-524.
- Belloso, K., González, I., Suárez, R and Cáceres, A. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diez basidiomicetos comestibles en Guatemala. *Cienc Tecnol Salud*, 2(2), 29–36.
<https://revistas.usac.edu.gt/index.php/cytes/article/view/65>.
- Berbeć, A. (2023). Classification of the Genus *Nicotiana* and Origin of *Nicotiana* Species. doi: 10.1007/978-3-031-54964-9_2
- Berridge, M. V., Herst, P. M., & Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11, 127–152.
- Birch-Machin, M. A., & Bowman, A. (2020). Oxidative stress and ageing: Clinical implications for the skin. *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(4), 337.
<https://doi.org/310.3390/antiox9040337>.
- Blaženović, I., Kind, T., Ji, J. y Fiehn, O. (2018). Software tools and approaches for compound identification of LC-MS/MS data in metabolomics. *Metabolites*, 8, 1-23. doi:10.3390/metabo8020031
- Cabrera, D., Sánchez, V., Román, M., Rondón, E. y Bello, I. (2020). Carcinoma basocelular tratado con HeberFERON, seguimiento clínico, histológico y ecográfico. Reporte de caso. *Gac. Méd. Espirit*, 22(3), 119-128.
- Cao, X., Wang, M., Zhou, M., Mi, Y., Guo, Q., Fan, Y., & Guo, Y. (2024). Global, regional and national burden of paediatric atopic dermatitis: A trend and geographic inequalities analysis. *Clinical and Experimental Allergy*.
<https://doi.org/10.1111/cea.14558>.
- Čapek, J., & Roušar, T. (2021). Detection of oxidative stress induced by nanomaterials in cells—the roles of reactive oxygen species and glutathione. *In Molecules*, 26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26164710>.
- Carneiro, R., Salgado, A., Raposo, S., Marto, J., Simões, S., Urbano, M., & Ribeiro, H. (2011). Topical emulsions containing ceramides: Effects on the skin barrier function and anti-inflammatory properties. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(8), 961–966. <https://doi.org/910.1002/EJLT.201000495>.
- Carrasco, M., Neira, C., Klett, B. y Cárcamo, L. (2021). Representación de la incidencia y de la mortalidad por cáncer en los medios de comunicación chilenos. *Rev Med Chile*, 149, 716-723.

- Castaño, T., Campo, M., Ysa, M. y Pons, A. (2011). Tabaco de liar: una prioridad de salud pública y consumo. *Elsevier España, S.L., ed.*
- Centeno, C., Jarquín, M., Morales, J., Castro, S., Calvo, L., Arnáez, E. (2024). Caracterización del daño oxidativo por el humo del cigarro en células epiteliales normales y su posible quimiopreención con extractos de manzana y ciruelo. *Toxicology in Vitro*. <https://www.tec.ac.cr/caracterizacion-dano-oxidativo-humo-cigarro-celulas-epiteliales-normales-su-possible>.
- Chacón, M. I., & Cantero, J. (2018). Aplicaciones farmacéuticas del tabaco: una revisión sobre sus metabolitos secundarios. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(2), 134-144.
- Chadha, H., Chandra, P., & Meher, B. (2020). Lipid peroxidation: A parameter linked to oxidative stress and psoriasis. A review. *Indian Drugs*. <https://doi.org/10.53879/id.57.08.12023>.
- Chambers, E. S., Vukmanovic-Stejic, M. (2020). Skin barrier immunity and ageing *Immunology*, 160, 116-125, 110.1111/imm.13152.
- Chaverri, G. R. (1995). Tobacco.
- Chemat, F., Vian, M. A. y Cravotto, G. (2017). Green Extraction of Natural Products: Principles and Applications. Wiley-Blackwell.
- Correa, D., Spengler, I., González, D., Vargas, S., Almuiña, Y. y Rodríguez, D (2019). Extracción simultánea de nicotina y solanesol en Residuos de hojas de tabaco. *CUBA TABACO*, 20(2), 37-43.
- Dayrit, J. F., Sugiharto, A., Coates, S.J., Lucero-Prisno, D.E., Davis, M.D., Andersen, L.K. (2022). Climate change, human migration, and skin disease: is there a link? *Int. J. Dermatol*, 61, 127-138, 110.1111/ijd.15543.
- De Gálvez, M. (2010). Antioxidantes en fotoprotección. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 101(3), 197-200. <https://doi.org/110.1016/j.ad.2009.1011.1003>.
- Deavall, D. G., Martin, E. A., Horner, J. M., & Roberts, R. (2012). Drug-induced oxidative stress and toxicity. *Journal of Toxicology*, 645460. <https://doi.org/645410.641155/642012/645460>.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. y Lui, R. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Diaz, C., Vallejo, W., Reales, Y. and Correa, P. (2015). Phenol photodegradation by Heber- Welss process under visible light on copper (III) tetracarboxyphenyl porphyrin supported on titanium dioxide. *Prospectiva*, 13(2), 47-53.
- Dong, X., et al. (2012). Exogenous antioxidants: a review of their therapeutic potential. *Molecular Medicine Reports*, 5(1), 9-15.
- Dueñas, J. (2017). Desarrollo de un producto bioactivo partiendo de extractos vegetales de especies alto andinas. *Fundación Universidad de América*, 154.

- Dunkle, M., Rubent, Y., Ortiz, A., Masugi, E. y Mitsui, K. (2016). Lipidomics of tobacco leaf and cigarette smoke. *Journal of Chromatography A*, 1439, 54-64.
- Edgell, C., McDonald, CC. y Graham, JB. (1983). Permanent cell line expressing human factor VIII-related antigen established by hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80(12), 3734-3737. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6407019/>.
- Edrey, Y. H. a. S., A.B. (2014). Revisiting an age-old question regarding oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 71(368-378).
- Espino, M. (2009). Guía para el cultivo del tabaco. La Habana, Cuba.
- Farfán, F. (2023). Impacto del consumo de tabaco en nuestra salud y en el medioambiente. <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-sin-tabaco-31-mayo-2023>.
- Finkel, T. (2011). Signal transduction in aging and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(11), 4469-4477.
- Fisher, G. J., Quan, T., Purohit, T., Shao, Y., Cho, M. K., He, T., Varani, J., Kang, S., & Voorhees, J. J. (2009). Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin. *The American Journal of Pathology*, 174(1), 101-114. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080599>.
- Garcia, E., Oldoni, TLC., Reis, A., Loguercio, AD and Grande, RHM. (2012). Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. *Braz Dent J*, 23(1), 22-27. <https://www.scielo.br/j/bdj/a/CBrMPCYLGfZgvpwrtNL24pHG/>.
- García, P., Marquéz, P. y Viola, M. (2015). Oxidative stress, DNA damage and cancer. *Rev. Cienc. Biomed*, 6(1), 107-117.
- Garrido, A. y R., C. (2018). El efecto de la quelación de metales en la actividad antioxidante: Revisión de métodos experimentales. *Revista de Química Farmacéutica*, 67(4), 431-442.
- Geadá, D., García, H., Curbelo, C., Cuervo, M., Geadá, G., Maestre, D., Cuza, M. (2010). Usos potenciales de los residuos sólidos derivados de la industria tabacalera. *Revista CENIC. Ciencias Químicas. Centro Nacional de Investigaciones Científicas La Habana*, 41, 1-10.
- Gisondi, P., Ellis, C., & Girolomoni, G. (2005). Pimecrolimus in dermatology: atopic dermatitis and beyond. *International Journal of Clinical Practice*, 59. <https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2005.00587.x>.
- Gleberzon, S. L., et al. (2012). Antioxidant enzymes and their role in oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1820(11), 1680-1695.
- Gomez, A. (2005). Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 65(2-3), 45-80.

- González, H. (2016). Estudio de la capacidad antioxidante de la tuna *Opuntia Streptacantha* y *Opuntia robusta* en la intoxicación aguda de acetaminofén. Tesis de doctorado. Universidad autónoma de Aguascalientes.
- Guertin, P. A. (2016). Epidemiology of dermatological diseases: Aging, metabolic diseases and beyond. *Global Drugs and Therapy*, 1(1). <https://doi.org/10.15761/GDT.1000104>.
- Guija, H. (2019). Actividad antioxidante y cinética de reacción de compuestos bioactivos de hojas de *Rubus sparsiflorus* (shiraca) frente a radicales libres. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. .
- Halliwell, B. (1987). The deoxyribose method: a simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radical. *Anal. Biochem*, 165, 215-219.
- Halliwell, B. (2007). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition Reviews*, 55(1), 44-51.
- Helwa, I., Choudhary, V., Chen, X., Kaddour-Djebbar, I., & Bollag, W. (2017). Anti-psoriatic drug monomethylfumarate increases nuclear factor erythroid 2-related factor 2 levels and induces aquaporin-3 mRNA and protein expression. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 362(2), 243–253. <https://doi.org/210.1124/jpet.11116.239715>.
- Hernández, O., Carranza, L., Cobos, R., López, L., Ascasio, V. & Silva, B. (2017). Fraccionamiento bioguiado de *Solanum elaeagnifolium* para evaluar la toxicidad en líneas celulares y explantes de tumores de mama. *Vitae*, 24(2), 124–131. <https://doi.org/110.17533/udea.vitae.v17524n17532a17505>.
- Hu, R., Wang, J., Li, H., Ni, H., Chen, Y., Xiang, S. y Li, H. (2015). Simultaneous extraction of nicotine and solanesol from waste tobacco materials by the column chromatographic extraction method and their separation and purification. *Separation and Purification Technology*, 146, 1-7.
- Huamani, A. (2023). Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas pos-cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en distrito de San Juan Bautista – Ica, Perú.
- Huang, W. (2008). Bioactivity of solanesol extracted from tobacco leaves with carbon dioxide–ethanol fluids. *Biochemical Engineering Journal of Chromatography A*, 42(1), 92-96.
- Huang, X. (2019). Bioactivities and Medicinal Value of Solanesol and Its Accumulation, Extraction Technology, and Determination Methods. *Molecules*, 24(8), 1552.
- Hueso, L. (2018). Estudio comparativo del tratamiento de las queratosis actínicas con Imiquimod tópico, terapia fotodinámica con Metilaminolevulinato y terapia secuencial de terapia fotodinámica con Metilaminolevulinato seguida de imiquimod tópico. Tesis doctoral, Universidad Católica de Valencia.

- Ishida, N. (2015). Search for Non-Volatile Components with Low Polarity Characterizing Tobacco Leaves Using Liquid Chromatography / Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry Detector. *Beiträge zur Tabakforschung International/ Contributions to Tobacco Research*, 26 (6).
- Jaramillo, C., Espinosza, A., De Armas, H. and Troccoli, L. (2016). Concentraions of alkaloids, cyanogenic glycosides, polyphenols and saponins in selected medicinal plants from Ecuador and their relationship with acute toxicity against *Artemia salina*. *Rev. Biol. Trop*, 64(3), 1171 -1184.
- Jimbow, K., Chen, H., Park, J. S., & Thomas, P. (2001). Increased sensitivity of melanocytes to oxidative stress and abnormal expression of tyrosinase-related protein in vitiligo. *British Journal of Dermatology*, 144(1), 55–65. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2001.03952.x>.
- Jones, O., Ranmuthu, C., Hall, P., Funston, G., & Walter, F. (2019). Recognising skin cancer in primary care. *Advances in Therapy*, 37, 603–616. <https://doi.org/10.1007/s12325-12019-01130-12321>.
- Joyeux, M., Lobstein, A., Anton, R., & Mortier, F. (1995). Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging effects of terpenes and biflavones from *Ginkgo biloba* L. *Planta Medica*, 61(2), 126-129.
- Kafle, P., Hamal, D., Sahu, S., Poudyal, P. y Kafle, SU. (2019). Clinico-pathological Analysis of Malignant Eyelid qnd Adnexal Tumors Preseng to ATerary Eye Hospital of Eastern Nepal. 4(3), 840-844.
- Karampinis, E., Nechaloti, P., Georgopoulou, K. E., Goniotakis, G., Roussaki Schulze, A. V., Zafiriou, E., & Kouretas, D. (2023). Systemic oxidative stress parameters in skin cancer patients and patients with benign lesions. Stresses. https://consensus.app/papers/systemic-oxidative-stress-parameters-in-skin-cancer-karampinis-nechaloti/d5923697f8e35a6f96f73dc893242b24/?utm_source=chatgpt.
- Karen, A., Dominguez-Cancino., J y Nazif-Muñoz, I. (2024). Tobacco policies and changes in the tendency of smoking cessation in cigarette users in Chile: a longitudinal cross-sectional study. *BMJ Open*, 14(5), e085248.
- Katiyar, S., Yadav, D., & Singh, S. K. (2024). Markers of oxidative stress and tyrosinase activity in melasma patients: A biochemical investigation. *Current Protein & Peptide Science*, 25(2), 183–188. <https://doi.org/10.2174/0113892037269116231115065458>.
- Khan, I., Khan, F., Farooqui, A., & Ansari, I. A. (2018). Andrographolide Exhibits Anticancer Potential Against Human Colon Cancer Cells by Inducing Cell Cycle Arrest and Programmed Cell Death via Augmentation of Intracellular Reactive Oxygen Species 32 Level. *Nutrition and Cancer*, 70(5), 787–803. <https://doi.org/10.1080/01635581.01632018.01470649>.
- Krajina, I., Stupin, A., Šola, M., & Mihalj, M. (2022). Oxidative stress induced by high salt diet—Possible implications for development and clinical manifestation

- of cutaneous inflammation and endothelial dysfunction in psoriasis vulgaris. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(7), 1269. <https://doi.org/1210.3390/antiox11071269>.
- Kumar, V., Bansal, M., & Sahoo, D. K (2015). Antioxidant potential and therapeutic prospects of solanesol: A bioactive triterpene alcohol from Solanaceae. *Pharmacological Reviews*, 67(4), 611-626.
- La Vecchia, C., Altieri, A. y Tavani, A. (2001). Vegetables, fruit, antioxidants and cancer: a review of Italian studies. *Eur J Nutr*, 40(6), 261–267.
- Langan, S. M., Irvine, A. D., & Weidinger, S. (2020). Atopic dermatitis. *The Lancet*, 396, 345–360. [https://doi.org/310.1016/S0140-6736\(1020\)31286-31281](https://doi.org/310.1016/S0140-6736(1020)31286-31281).
- León, J. (2000). Botánica de los cultivos tropicales. 1ra. Edición. Heredia, Costa Rica, 337-354.
- Lerche, C., & Wulf, H. (2010). Photocarcinogenicity of selected topically applied dermatological drugs: calcineurin inhibitors, corticosteroids, and vitamin D analogs. *Dermatology Reports*, 2, e13. <https://doi.org/10.4081/dr.2010.e4013>.
- Li Pomi, F., D'Aloja, A., Valguarnera, D., Vaccaro, M., & Borgia, F. (2025). Exploring anti-aging effects of topical treatments for actinic keratosis. *Medicina*. <https://doi.org/10.3390/medicina61020207>.
- Liu, A., Zhao, W., Zhang, B.-X., Tu, Y., Wang, Q., & Li, J. (2020). Cimifugin ameliorates imiquimod-induced psoriasis by inhibiting oxidative stress and inflammation via NF-κB/MAPK pathway. *Bioscience Reports*, 40. <https://doi.org/10.1042/BSR20200471>.
- Liu, X., Zhang, X., & Xu, H. (2015). Antioxidant and anti-aging effects of solanesol from Solanum nigrum in skin fibroblasts and keratinocytes. *Food & Function*, 6(8), 2811-2819.
- Luck, S. (2009). Guía Completa de Puros (Edición en Español edición). Barcelona: Parragon Books Ltd, 176.
- Ma, Y. (2025). Solanesol: a promising natural product. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1504245. <https://doi.org/1504210.1503389/fphar.1502025.1504245>.
- Ma, Y., Hou, T., Zhang, J., Zhou, Y., Xu, R., Liu, Y and Wang, Y. (2011). Solanesol antioxidation. *Food Res. Dev*, 32, 8–12.
- Makanjuola, K. (2015). Optimization and prediction of antioxidant properties of a tea-ginger extract. *Food Science & Nutrition*, 3(5), 374–384. <https://doi.org/310.1002/fsn1003.1237>.
- Medina, L. y K., R AM. (2010). Mortalidad del adulto en Chile. *Rev. méd. Chile*, 128, 1144–1149.
- Melnikova, V., & Ananthaswamy, H. (2005). Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 57(1), 91–106. <https://doi.org/110.1016/j.mrfmmm.2004.1011.1015>.

- Merck, K. (2024). Protocolo del análisis de la viabilidad y la proliferación celulares con MTT. <https://www.sigmaaldrich.com/CL/es/technical-documents/protocol/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-counting-and-health-analysis/cell-proliferation-kitimimtttsrsltid=AfmBOopGu04CTszhZ71dsEEpcxhwZlHfcO2kpyBQIKbnkKcOifMzC>.
- Montero, P., Roger, I., Milara, J., & Cortijo, J. (2023). Damaging effects of UVA, blue light, and infrared radiation: In vitro assessment on a reconstructed full-thickness human skin. *Frontiers in Medicine*, 10, 1267409. <https://doi.org/10.1263389/fmed.1262023.1267409>.
- Morgado, D., Piquero, J., & Bosch, X. (2021). Estrategias farmacológicas y no farmacológicas para la prevención del cáncer cutáneo no melanoma. *Piel*, 37(3). <https://doi.org/10.1016/j.piel.2020.10.016>.
- Morillas, J. a. D. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes origenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutr. Clin. Diet. Hosp*, 32(2), 8-20.
- Morita, A. (2007). Tobacco smoke causes premature skin aging. *Journal of Dermatological Science*, 48(3), 169–175. <https://doi.org/110.1016/j.jdermsci.2007.1006.1015>.
- Muñoz, M. (2011). Determinación de la actividad antioxidante de los extractos metanólicos y alcaloideos de *Nicotiana glauca* Gram., *Nicotiana trigonophylla* Dunal y *Solanum rostratum* Dunal. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/6583>.
- N. Yan, Y. L., D. Gong, Y. Du, H. Zhang, Z. Zhang. (2015). Solanesol: a review of its resources, derivatives, bioactivities, medicinal applications, and biosynthesis. *Phytochemistry Rev*, 14(3), 403–417.
- Naik, S. y. S., M. (2023). Topical administration of solanesol loaded gel: preparation, physicochemical characterization, and in vitro pharmacokinetic profiling. *European Chemical Bulletin*, 12(6), 2752–2759. DOI: 2710.31838/ecb/32023.31812.31836.31247.
- NF, U. (2007). Farmacopea de los Estados Unidos de América: Formulario nacional; Compendios de Normas Oficiales. 2, Ed.30°, United States Pharmacopeial Convention.
- Noels, E., Lugtenberg, M., Van Egmond, S., Droger, S., Buis, P. y Nijsten, T (2019). Insight into the management of actinic keratosis: a qualitative interview study among general practitioners and dermatologists. *Br J Dermatol*, 181(1), 96–104.
- Ojha, H., Mishra, K. y Chaudhury, NK. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130, 1036-1043. doi:1010.1016/j.foodchem.2011.1007.1127

- Okada, Y. y O., M. (1998). Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species. *J. Agric. Food Chem*, 46, 401-406.
- OMS, O. M. d. I. S. (2023). National Cancer Institute, NIH. World Cancer Research Fund. American Cancer Society. DEIS (Dirección de Estadísticas e Información de Salud) del Ministerio de Salud y Desarrollo Social.
- Ortega, Ó., Ondo-Méndez, A. y Garzón, R. (2017). STAT3 activation by hypoxia in in vitro models of cervix cancer and endothelial cells. *Biomedica*, 37(1), 119.
- Pérez, M., Arroyo, J.L., Ramos, E., & Retuerto, M.G. (2021). Evaluación de la actividad antioxidante del extracto acuoso del fruto micropulverizado de Solanum melongena L. 'berenjena' (Solanaceae). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(4), 345-352.
- Pingali, S., Pujari, V. y Bhagavanraju, M. (2017). Formulation and evaluation of antiinflammatory herbal gel containing isolated solanesol. *Annals of Phytomedicine: An International Journal*, 6, 127-131.
- Posselt, F., & Reimann, L. (1828). Ueber das Nicotin.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/4210.1021/jf0502698>.
- Puri, P., Nandar, S. K., Kathuria, S., & Ramesh, V. (2017). Effects of air pollution on the skin: A review. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 83, 415–423. <https://doi.org/410.4103/0378-6323.199579>.
- Pyrzynsha, K. a. P., A. (2013). Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods*, 5(7), 4288-4295.
- Qin, B. (2017). PEGylated Solanesol for Oral Delivery of Coenzyme Q10. *J. Agric. Food Chem*, 65(16), 3360-3367.
- Quezada, A. L., y Rivera, A. R. (2015). Antioxidantes naturales y su acción en la salud humana. *Revista de Ciencias Farmacéuticas*, 10(3), 45-56.
- Ren, X., Zhang, Y., Wang, J., & Wang, X. (2017). Protective effects of solanesol against UV-induced oxidative stress in human keratinocytes. *Journal of Dermatological Science*, 85(2), 140-147.
- Rivas, M., Calaf, G., Laroze, D., Rojas, E., Mendez, J., Honeyman, J., & Araya, M. (2020). Solar ultraviolet A radiation and nonmelanoma skin cancer in Arica, Chile. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 212,, 112047. <https://doi.org/112010.111016/j.jphotobiol.112020.112047>.
- Rivera, V. a. S., A. (2016). Actividad antioxidante de extractos etanolicos y acuosos de vaina de mezquite (Prosopis velutina) con potencial de aditivo alimentario. *Tlamati Sabiduria*, 7(2), 1-9.
- Rizki, E., Muharam, Y. y Gozan M. (2024). Solanesol sequential extraction from tobacco leaves using microwave-ultrasound-assisted extraction (MUAE):

- MAE optimization. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 8, 100393. <https://doi.org/100310.101016/j.crgsc.102023.100393>. .
- Roewert-Huber, J., Stockfleth, E. y Kerl, H. (2007). Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis- an update. *Br J Dermatol*, 157(2), 18–20.
- Rogers, H., Weinstock, MA., Harris, AR., Hinckley, MR., Feldman, SR. y Fleischer, AB. (2010). Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States 2006. *Arch Dermatol*, 146(3), 283–287.
- Rossi, R., Mori, M. y Lotti, T. (2007). Actinic keratosis. *Int J Dermatol*, 46(9), 895–904.
- Ruiz, B. (2009). Propiedades antioxidantes de los productos de la reacción de Maillard y su influencia en la absorción de hierro y cobre. Relación con la capacidad quelantes de metales. Tesis doctoral, Granada, España.
- Sapunar, J. Z., Pantoja, Á. A., Marín, L. D., & Ferrer-Rosende, P. (2022). Epidemiology and clinical features of malignant melanoma. Analysis of 274 cases. *Revista Medica de Chile*, 150(12), 1585–1595. <https://doi.org/1510.4067/s0034-98872022001201585>.
- Schikowski, T., & Hüls, A. (2020). Air pollution and skin aging. *Current Environmental Health Reports*, 7, 58–64. <https://doi.org/10.1007/s40572-40020-00262-40579>.
- Scholtissek, B., Zahn, S., Maier, J., Klaeschen, S., Braegelmann, C., Hoelzel, M., Bieber, T., Barchet, W., & Wenzel, J. (2017). Immunostimulatory endogenous nucleic acids drive the lesional inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *The Journal of Investigative Dermatology*, 137(7), 1484–1492. <https://doi.org/1410.1016/j.jid.2017.1403.1018>.
- Sendra, J., Sentandreu, E., Navarro, JL. (2006). Reduction kinetics of the free stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) for determination of the antiradical activity of citrus juices. *Eur Food Res Technol*, 223(5), 615–624. <https://ucanr.edu/datastoreFiles/608-597.pdf>.
- Sieradocha, K. (2024). Air pollution and skin aging. *Quality in Sport*. <https://doi.org/10.12775/qs.2024.31.55784>.
- Sies, H. (2014). Antioxidants in cancer prevention: the role of oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(13), 1665-1678.
- Singleton, V. y R., JA. (2014). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*, 16, 144-158.
- Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H. y Leonart, M. (2013). Oxidative stress and cancer: A overview. *Ageing Res. Rev*, 12(1), 376-390.
- Sridevi, P. V., P. y Bhagavan Raju, M. (2017). Formulation and evaluation of anti-inflammatory herbal gel containing isolated solanesol. *Ann. Phytomed*, 6(1), 127-131. doi:110.21276/ap.22017.21276.21271.21219.

- Sudra, G. a. S., M. (2011). In vitro free radical scavenging activity of raw pepino fruit (*Solanum muricatum* aiton). *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3(2).
- Tabaco, M. d. (2016). Morfología del Tabaco. <https://www.tipsytemasagronicos.com/morfologia-del-tabaco/>.
- Tilotta, G., Pistone, G., Gurreri, R., Curiale, S., Castelli, E., & Bongiorno, M. (2020). Possible strategy to prevent recurrence of actinic keratosis after treatment: field-directed photoprotection and anti-inflammatory therapy. *Dermatologic Therapy*, 33. <https://doi.org/10.1111/dth.13830>.
- Tissier, A. (2012). Glandular trichomes: what comes after expressed sequence tags? *The Plant Journal*, 70(1), 51-68.
- Tita, G. (2021). Desarrollo de una biorrefinería de subproductos del tabaco mediante fluidos supercríticos. *Tesis presentada para optar al grado de Doctor, Universidad de Valladolid, España. doi:10.35376/10324/48511*.
- Torres, C. L., Hincapiè, G.M. and Barrera, R. (2017). Preliminary studies on the use of potatoes harvest residues as solanesol source. *Scientia et Technica*, 22(4), 416-421. ISSN 0122-1701.
- Tran, J. T., Diaz, M. J., Rodriguez, D., Kleinberg, G., Aflatooni, S., Palreddy, S., Abdi, P., Taneja, K., Batchu, S., & Forouzandeh, M. (2023). Evidence-Based Utility of Adjunct Antioxidant Supplementation for the Prevention and Treatment of Dermatologic Diseases: A Comprehensive Systematic Review. *Antioxidants & Redox Signaling*, 12(8), 1503. <https://doi.org/1510.3390/antiox12081503>.
- Tricker, A. (2006). Biomarkers derived from nicotina and its metabolites. A review. *Contributions to Tobacco Research*, 22(3), 147-175.
- Tso, T. (2006). Tobacco research and its relevance to science, medicine and industry. *Contributions to Tobacco Research*, 22(3), 133-146.
- Valko, M., et al. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vallecilla, C. (2013). Efectos del cigarrillo (el asesino silencioso). Clasificación taxonómica y composición química del tabaco.
- Valverde, G. J. (2014). Capacidad antioxidante del extracto acuoso de tres variedades tipo amarillo, naranja y morado de Ipomoea Batatas (camote). Lima, Perú. .
- Vieyra-Garcia, P., & Wolf, P (2020). A deep dive into UV-based phototherapy: Mechanisms of action and emerging molecular targets in inflammation and cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 107784. <https://doi.org/107710.101016/j.pharmthera.102020.107784>.
- Wang, H., Gao, Y., & Zhang, Y (2020). Biosynthesis and therapeutic potential of solanesol and its derivatives. *Frontiers in Pharmacology*, 11(345).

- Wang, L., & Weller, CL. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300–312. <https://doi.org/310.1016/j.tifs.2005.1012.1004>.
- Williams, C. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep*, 21, 539-573.
- Yang, Y., Pan, Y., Liu, B., Zhang, Y., Yin, C., Wang, J., Nie, H., Xu, R., Tai, Y., He, X., Shao, X., Liang, Y., & Fang, J. (2024). Neutrophil-derived oxidative stress contributes to skin inflammation and scratching in a mouse model of allergic contact dermatitis via triggering pro-inflammatory cytokine and pruritogen production in skin. *Biochemical Pharmacology*, 116163. <https://doi.org/116110.111016/j.bcp.112024.116163>.
- Yao, X. (2015). Solanesol protects human hepatic L02 cells from ethanol-induced oxidative injury via upregulation of HO-1 and Hsp70. *Toxicology in Vitro*, 29(3), 600-608. <https://www.tec.ac.cr/caracterizacion-dano-oxidativo-humo-cigarro-celulas-epiteliales-normales-su-posible>.
- Yao, X. a. L., B. (2017). Solanesol induces the expression of heme oxygenase-1 via p38 and Akt and suppresses the production of proinflammatory cytokines in RAW264.7 cells. *Food & Function*, 8(1), 132–141.
- Yarahmadi, A., Zal, F., and Bolouki, A. (2017). Protective effects of quercetin on nicotine-induced oxidative stress in HepG2 cells. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(8), 609-614. ouci.dntb.gov.ua.
- Yiqiu, L., Musen, L., Xingrui, M., Lin, Q., Junyu, D., Ye, L., Xingqian, W., Wenjie, H., Huiwen, P., Felicity, H., Chengxin, S. y Xuqiang N. (2023). Protective effect of solanesol in glucose-induced hepatocyte injury: Mechanistic insights on oxidative stress and mitochondrial preservation. *Chemico-Biological Interactions*, 383. <https://doi.org/310.1016/j.cbi.2023.110676>.
- Yong, T. Y.-x., L., Yuan-ying, W. y Zhi-de, W. (2007). The submicroscopic structure of tobacco seed and its significance taxonomy.
- Zhang, L., Wang, Y., & Lin, Y. (2019). Biological activities of solanesol: a review. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 522.
- Zhang, L., Wang, Y., and Wang, Q. (2023). Efecto protector del solanesol en lesiones de hepatocitos inducidas por glucosa: Perspectivas mecanicistas sobre el estrés oxidativo y la preservación mitocondrial. *Chemico-Biological Interactions*, 383, 110676. [110610.111016/j.cbi.112023.110676](https://doi.org/110610.111016/j.cbi.112023.110676) ctdbase.org+110671 ouci.dntb.gov.ua+110671.
- Zhang, Z. a. Q., J. (2012). Comparative study on antioxidant activity of four varieties of *Flammulina velutipes* with different colour. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 48(2).
- Zhao, W. (2015). Separation and purification of chlorogenic acid from tobacco by-products by polyamide and silicagel column chromatography. *African journal of biotechnology*, 14, 1731-1736.

- Zhou, Y., Zheng, J., Li, S., Zhou, T., Zhang, P., Li, HB. (2016). Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients*, 8(8), 515. <https://doi.org/510.3390/nu8080515>.
- Zuluaga, A., & Gaviria, D. (2012). Una mirada al estrés oxidativo en la célula. *Revista Médica de Risaralda*, 18(2). <https://doi.org/10.22517/25395203.7923>).